

اثر افزودن پروبیوتیک Protexin در جیره غذایی شاه میگوی آب شیرین (*Astacus leptodactylus*) بر شاخصهای رشد و بازماندگی

امیر ساجدی راد^۱، عباسعلی زمینی^۲، علیرضا ولی پور^۳، محمد رضا حیات بخش^۱

۱- باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، گروه شیلات

۳- پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی کشور، ایستگاه تحقیقات شیلاتی سفید رود، بندر انزلی

نویسنده مسؤو: امیر ساجدی راد، باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان amir_sajedi61@yahoo.com

دریافت: ۸۸/۱۱/۳ پذیرش: ۸۸/۱۲/۸

چکیده

زمینه و هدف: پروبیوتیکها میکروارگانیسمهای زندهای هستند که برای بهبود سلامتی حیوان میزبان به مکملهای غذایی اضافه می شوند. اخیراً تحقیقات نسبتاً زیادی در زمینه نقش پروبیوتیکها در افزایش رشد و مقاومت به بیماریها در موجودات آبی صورت گرفته است. اما در زمینه عملکرد پروبیوتیکها بر شاه میگوهای آب شیرین به ویژه گونه *Astacus leptodactylus* تحقیقات بسیار اندکی انجام شده است. هدف از این مطالعه ارزیابی اثر سطوح مختلف پروبیوتیک Protexin در جیره غذایی Isonitrogenous و Isoenergetics بر روی رشد و بازماندگی *Astacus leptodactylus* می باشد.

روش بررسی: تیمارهای غذایی شامل سطوح ۰، ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم غذا بودند. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی بود. هر تیمار متشکل از ۳ تکرار بوده و جمعاً در ۹ مخزن پرورشی صورت گرفت. طول دوره آزمایش طی یک برنامه ۸ هفته ای انجام شد و شاه میگوها در مخزنهای فایبرگلاس با ظرفیت ۱۰۰ لیتری که دارای جریان هوای دائمی بودند و تعویض آب به صورت روزانه صورت می گرفت، نگهداری شدند. متوسط وزن اولیه موجودات $23/05 \pm 0/74$ گرم بود. **یافته ها:** نتایج نشان داد که با افزایش سطح پروبیوتیک در جیره های آزمایشی شاخصهای رشدی *Astacus leptodactylus* در رابطه با افزایش وزن و شاخص رشد ویژه، بهبود یافته و بین تیمار فاقد پروبیوتیک و تیمار پروبیوتیک ۳gr/kg اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0.05$). همچنین اختلاف ضریب چاقی و درصد بازماندگی شاه میگوهای آزمایشی در تیمارهای آزمایشی مختلف که با سطوح مختلف پروبیوتیک تغذیه شده بودند معنی دار نبود ($P > 0.05$).

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که پروبیوتیک پروتکسین توانایی تأثیر گذاری بالایی بر شاخصهای رشدی شاه میگوی آب شیرین داشته و در بین سطوح مختلف بکار برده شده بهترین دوز مؤثر بر شاخصهای رشدی، سطح ۳ گرم پروبیوتیک به ازای کیلوگرم غذای خشک می باشد.

واژه های کلیدی: *Astacus leptodactylus*، تغذیه، پروبیوتیک، Protexin، رشد

مقدمه

شاه میگوی آب شیرین به عنوان یک غذای لذیذ بویژه بیش از همه در سوئد، فرانسه، ایتالیا، فنلاند، اسپانیا، آلمان و سایر کشورهای پیشرفته مورد استفاده قرار می‌گیرد. از آنجایی که این آبرزی از نظر اقتصادی ارزش بالایی دارد در بعضی از کشورها با اینکه خود مصرف داخلی ندارند اما به صید وسیع و یا پرورش گونه‌های مختلف آن علاقه نشان می‌دهند. (۱). این گونه نسبت به تمام گونه‌های اروپایی بیشترین رشد را داشته و نسبت به بیماری‌ها مقاوم‌تر می‌باشد و همچنین پرورش استخری این گونه نسبت به گونه‌های دیگر به علت سازگاری مطلوب، راست (۲، ۳ و ۴).

استفاده از پروبیوتیک‌ها در آبرزی پروری، باعث کاهش سطح ترکیبات آنتی میکروبیال (بویژه آنتی بیوتیک‌ها) بکار رفته، افزایش میزان اشتها و یا مقدار رشد گونه‌های پرورش می‌شود (۵). شاید بتوان مهمترین ویژگی پروبیوتیک‌ها را در این دانست که ضمن کاهش بیماری و بهبود ضریب تبدیل غذایی در دام و طیور، هیچ باقیمانده‌ای در بافتها نداشته و بر خلاف پادزیستها مقاومت میکروبی ایجاد نمی‌نمایند. مطمئناً، پروبیوتیک‌ها نبایستی برای میزبان ضرر داشته باشند (۶) پروبیوتیک‌ها با تولید ویتامین و سم زدایی از جیره غذایی و یا تجزیه ترکیبات غیر قابل هضم، اشتها را تحریک می‌کنند و شرایط تغذیه‌ای بهتری را در آبرزی ایجاد می‌نمایند (۵). مهم‌ترین دلیل این امر احتمالاً در ارتباط با تولید آنزیم‌هایی مانند پروتئولیتیک و پپتیدولیتیک توسط باکتری‌های موجود در پروبیوتیک مصرفی می‌باشد، که ترکیبات ماکرومولکول‌ها را به پپتیدها و آمینواسیدها هیدرولیز می‌کند (۷).

از طرف دیگر *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis*، قادر به شکستن پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌باشند (۸)، در ضمن، توانایی تولید برخی از ویتامین‌های متعلق به گروه B، همچون بیوتین و B₁₂ را دارد که می‌تواند فاکتور دیگری برای متابولیسم بهتر مواد غذایی در این موجودات باشد (۵ و ۹). پروبیوتیک پروتکسین آکواتک (Probiotics International Ltd) شامل باکتری‌های باسیلوس (*Bacillus licheniformis*) (*Bacillus subtilis*)، با تعداد کل باکتری‌های زنده شمارش شده (CFU/g) 1×10^8 می‌باشد. این فرآورده دارای ترکیبات سویا به عنوان سوبسترا نیز هست. از آنجاکه اطلاعات محدودی در خصوص تغذیه گونه بازو باریک بومی ایران وجود دارد به منظور رشد بیشتر شاه میگوی آب شیرین، بررسی تغذیه‌ای با

تأثیرات مقادیر مختلف پروبیوتیک Protexin با سطوح ۰، ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم غذا در جیره غذایی با توجه به معیارهای رشد آن انجام شد.

روش بررسی

این بررسی به مدت ۸ هفته در اواخر تابستان ۱۳۸۸ در ایستگاه تحقیقات شیلاتی سفید رود (پل آستانه) انجام شد. شاه میگوها از دریاچه پشت سد ارس صید شده و پس از انتقال به ایستگاه، با وزن اولیه 0.74 ± 0.23 گرم در ۹ وان فایبر گلاس ۱۰۰ لیتری که با ۷۰ لیتر آب چاه تازه پر شده و روزانه ۳۰٪ آب سیفون و تعویض می‌شد و هر ۵ روز یکبار تعویض کامل آب و شستشوی وان انجام می‌گرفت، معرفی شدند.

دو جیره با مقادیر پروبیوتیک ۱ و ۳ گرم در کیلوگرم غذا و یک جیره شاهد بدون پروبیوتیک با انرژی قابل هضم (DE) ثابت ۳۷۰۰ کالری بر گرم و با ۳۵٪ پروتئین با ۳ تیمار و ۳ تکرار برای هر کدام انجام شد. جیره‌ها با استفاده از نرم افزار لیندو (Lindo) فرموله گردیدند. مواد اولیه جیره‌ها شامل کازئین، دکستروز، ژلاتین، پودر ماهی، آرد گندم، آرد ذرت، روغن ماهی، پودر شاه میگو، سلولز، مخلوط مواد معدنی، مخلوط ویتامین، کولین کلراید، آرد سویا، ویتامین C بود که در هر یک از سطوح با در نظر گرفتن ترکیب حاصل از آنالیز لاشه بدن شاه میگو و تعادل در اسیدهای آمینه، چربی و سایر مواد متعادل گردید. ابتدا این مواد اولیه پس از توزین به خوبی بایکدیگر مخلوط شده و بعد روغن به آن اضافه شد و سپس جهت مطالعه مقادیر مختلف پروبیوتیک ابتدا با مولینکس پودر شده سپس با ۲۰٪ آب مخلوط شده و بعد به غذا اضافه گردید و پس از اینکه کل مخلوط با هم‌زدن به صورت خمیر یکنواختی در آمد آن را از یک چرخ گوشت عبور داده تا به صورت رشته‌های ماکارونی در آید، سپس این رشته‌ها در دمای اتاق به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت خشک گردید تا رطوبت آنها به کمتر از ۱۰٪ کاهش یافت و بعد توسط سیم چین به حبه‌های کوچکی تبدیل شدند بطوری که در هر گرم ۶۱ حبه وجود داشت.

شاه میگوها با متوسط وزن 0.74 ± 0.23 گرم به تعداد ۸ قطعه در هر وان بطور تصادفی توزیع شدند و به مدت ۱۴ روز جهت سازگاری با شرایط پرورش در این وانها نگهداری شدند پس از پایان دوره سازگاری اولین بیومتری انجام گرفته و دوره پرورش آغاز شد و شاه میگوها روزانه یک نوبت در ساعت ۱۷ هرروز تغذیه شدند. در روز بعد مدفوع و مواد غذایی خورده نشده باقیمانده در کف وانها سیفون، و پس از خشک کردن غذای مصرف نشده توسط آون ۱۰۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲

در ابتدا آزمون نرمالیتی به وسیله آزمون کلموگروف - اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) انجام شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها، برای مقایسه کلی بین تیمارهای تغذیه ای از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. در صورت نرمال نبودن داده‌ها اقدام به نرمال کردن آن‌ها نموده و در صورت نرمال نشدن از آزمون‌های غیر پارامتریک کروسکال والیس استفاده شد. از نرم افزار SPSS 13 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و با استفاده از نرم افزار Excel جداول و نمودارها رسم گردید.

یافته ها

نتایج بدست آمده از تغذیه شاه میگوها با جیره‌های پروبیوتیکی و جیره فاقد آن، نشان داد در بین تیمارها، شاه میگوها در دو سطح پروبیوتیکی مصرفی نسبت به سایر تیمارها رشد بهتری داشته و به وزن بالاتری رسیدند، و در بین دو سطح پروبیوتیکی، شاه میگوهای تیمار پرو بیوتیک ۳ gr/kg وزن بالاتری را حاصل نمودند. مقایسه میانگین شاخص‌های رشد شاه میگوی آب شیرین در نمودارهای ۱ تا ۴ نشان دهنده آن است که با افزایش میزان پروبیوتیک درصد افزایش وزن بدن و شاخص رشد ویژه بهبود یافته و در تیمارهای پروبیوتیکی نسبت به گروه شاهد بیشتر بوده است. حداکثر درصد افزایش وزن و ضریب رشد ویژه در تیمارهای پروبیوتیکی دیده شد و بیشترین آن مربوط به تیمار پروبیوتیک ۳ gr/kg بوده و حداقل میزان این دو فاکتور در گروه شاهد مشاهده گردید ($P < 0.05$).

تیمار پروبیوتیک ۱ gr/kg پس از پروبیوتیک ۳ gr/kg بیشترین مقدار را در فاکتورهای مذکور دارا بود و از لحاظ آماری ما بین این دو سطح در حدواسط قرار گرفت. همچنین در خصوص اختلاف ضریب چاقی حداکثر آن در تیمار پروبیوتیک ۳ gr/kg به میزان 0.05 ± 0.31 و حداقل آن با اندکی اختلاف مربوط به گروه شاهد 0.47 ± 0.298 می‌باشد. و بطور کلی در نتایج حاصل از بررسی ضریب چاقی (K)، با توجه به آزمون آنالیز واریانس یکطرفه انجام گرفته، بین هیچ یک از تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

کمترین میزان درصد بازماندگی مربوط به گروه شاهد با $7/22$ $\pm 87/5$ درصد بوده و میزان بازماندگی در ۲ تیمار دیگر با میزان $4/17 \pm 95/83$ درصد بایکدیگر برابر بودند. و در کل

امیر ساجدی راد و همکاران

ساعت و سپس توزین کردن و اضافه کردن رطوبت غذا به این وزن، میزان غذای مصرف نشده محاسبه می‌شد. میزان غذای حبه شده ۲-۳ درصد بیومس محاسبه می‌گردید. زیست سنجی به منظور دستیابی به معیارهای شاخص رشد هر دو هفته یکبار انجام می‌گرفت. شاخص‌های کیفی آب مانند درجه حرارت، اکسیژن محلول، pH بطور روزانه و میزان آمونیاک، نیتريت و سختی کل هر دو هفته یکبار اندازه‌گیری می‌شد (جدول ۱).

جدول ۱- خصوصیات فیزیوشیمیایی آب مورد استفاده در تانک‌های آزمایش

عوامل	نمونه آب
سختی کل (mg/l)	۲۱۵
نیتريت (mg/l)	۰/۱۲
NH ₃ (mg/l)	۰/۰۸
NH ₄ ⁺ (mg/l)	۱/۶
کربنات (mg/l)	۰
بی کربنات (mg/l)	۳۰۵
قلیائیت کل (mg/l)	۵
کدورت (F.T.U)	۱۸
CO ₂ (mg/l)	۰/۵

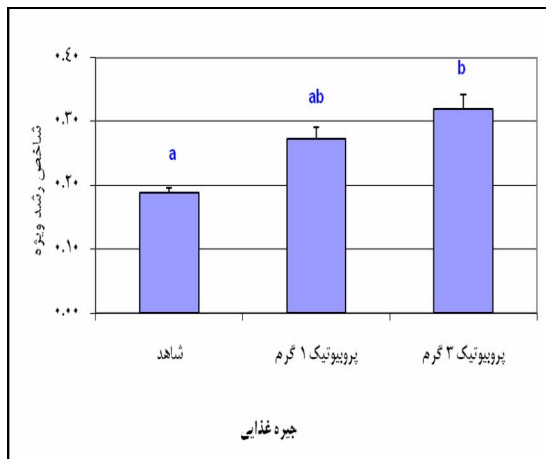
همچنین متوسط دما در طول دوره آزمایش $25/860 \pm 0/196$ درجه سانتیگراد بوده و میانگین اکسیژن محلول در کل دوره آزمایش $7/46 \pm 0/066$ میلی‌گرم در لیتر و میانگین pH در کل دوره آزمایش $7/78 \pm 0/014$ اندازه‌گیری شد. درصد افزایش وزن بدن (BWI)، شاخص رشد ویژه (SGR)، ضریب چاقی (CF)، درصد بازماندگی (SVR) از طریق معادله‌های زیر محاسبه شدند (۱۹).

$$BWI = \left[\frac{\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}}{\text{وزن اولیه}} \right] \times 100$$

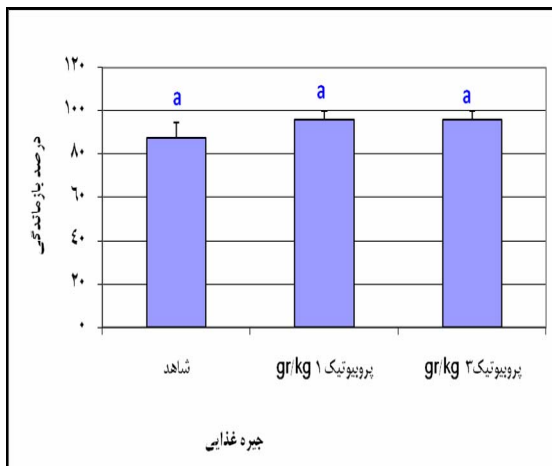
$$SGR \text{ (day)} = \left[\frac{\text{لگاریتم نبری وزن اولیه} - \text{لگاریتم نبری وزن نهایی}}{\text{روزهای آزمایش}} \right] \times 100$$

$$CF = \frac{\text{وزن نهایی}}{\text{طول کل}} \times 100$$

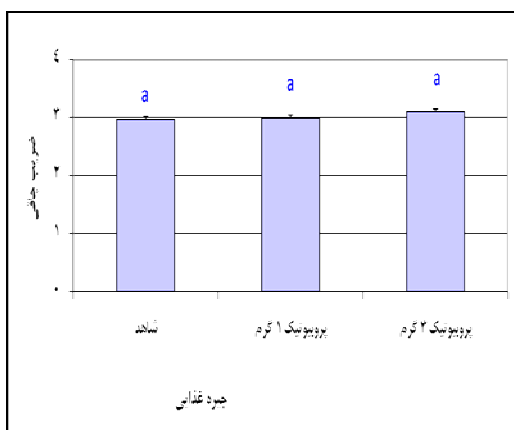
$$SVR \% = \frac{\text{تعداد تلفات} - \text{تعداد موجودات مورد آزمایش}}{\text{تعداد موجودات مورد آزمایش}} \times 100$$



نمودار ۲- مقایسه میانگین شاخص رشد ویژه در انتهای دوره بر اساس جیره‌های مختلف غذایی



نمودار ۳- مقایسه میانگین درصد بازماندگی در انتهای دوره بر اساس جیره‌های مختلف غذایی

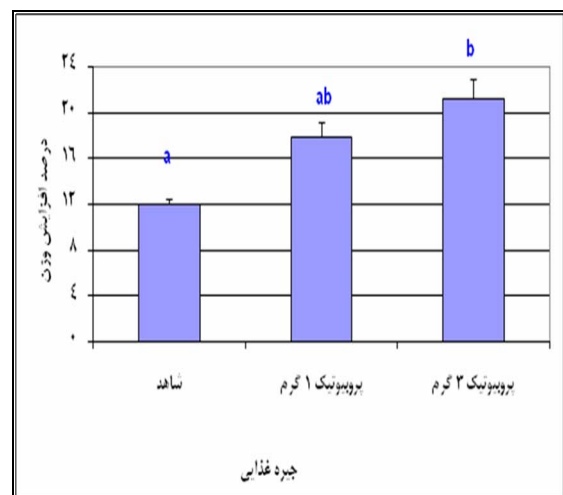


نمودار ۴- مقایسه میانگین ضریب چاقی در انتهای دوره بر اساس جیره‌های مختلف غذایی

باتوجه به آزمون آنالیز واریانس یکطرفه انجام گرفته نتیجه گرفتیم که بین هیچ یک از تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و همگی در یک سطح آماری قرار دارند ($P>0.05$). جداول ۲ تا ۵ بیانگر میانگین، حداقل و حداکثر فاکتورهای مورد مطالعه در انتهای دوره آزمایش می‌باشند.

جدول ۲- خطای استاندارد SVR, K, SGR در انتهای دوره پرورش بر اساس جیره‌های مختلف

جیره غذایی	شاهد	پروبیوتیک ۱gr/kg	پروبیوتیک ۳gr/kg
Mean±S.E (BWI)	0.426 ± 0.1203	0.271 ± 0.1784	0.168 ± 0.1152
Mean±S.E (SGR)	0.006 ± 0.189	0.17 ± 0.27	0.23 ± 0.32
Mean±S.E (K)	0.47 ± 0.298	0.42 ± 0.3	0.5 ± 0.31
Mean±S.E (SVR)	7.22 ± 87.5	4.17 ± 95.83	4.17 ± 95.83



نمودار ۱- مقایسه میانگین درصد افزایش وزن در انتهای دوره بر اساس جیره‌های مختلف غذایی

بحث

میکروبهایی که مانع از رشد میشوند، باشد (۱۷). در این تحقیق تیمارهای پروبیوتیک ۰/۳٪ و ۰/۱٪ بیشترین ضریب رشد ویژه را به خود اختصاص دادند، که با نتایج به دست آمده از برخی محققان مطابقت دارد. Gomez و همکاران در آزمایشی تأثیر باسیلوسهای *B. natto*، *B. subtilis* و *B. licheniformis* را به عنوان پروبیوتیک بر رشد و فعالیت آنزیمهای گوارشی *Litopenaeus vannamei* با وزن 4.63 ± 0.5 g به مدت ۴۵ روز سنجیدند که در این تحقیق اسپور این باسیلوسها به میزان ۰، ۱/۵، ۳، ۴/۵، ۶، ۷/۵ درصد به جیره غذایی با ۴۲٪ پروتئین، ۱۰٪ چربی و ۷٪ رطوبت با ۱۹٪ انرژی افزوده شد. نتایج نشان داد بیشترین میزان وزن مربوط به تیمار ۳٪ و پس از آن مربوط به تیمار ۶٪ بوده است که با هم در یک سطح آماری قرار داشتند و کمترین آنها مربوط به گروه شاهد بوده است و بقیه تیمارها در یک سطح آماری قرار داشته و با اختلاف معنی داری مابین این دو سطح قرار گرفتند. بیشترین ضریب رشد ویژه مربوط به تیمار ۳٪ و بعد از آن به ترتیب مربوط به تیمار ۶٪ و ۴/۵٪ بوده که با هم در یک سطح آماری قرار داشتند و کمترین آن مربوط به گروه شاهد بود (۱۸).

Gullian و همکاران در میگوی *P. vannamei* از پروبیوتیک *V. alginolyticus* و *Vibrio P64*، *Bacillus P64* استفاده نمودند و ضریب رشد بالاتری را در تیمارهایی که پروبیوتیک به غذایشان اضافه شده بود، مشاهده نمودند. در این مطالعه اختلاف معنی داری در درصد بازماندگی و ضریب چاقی بین تیمارها مشاهده نشد (با سطح اطمینان ۹۵٪) هرچند کمترین میزان درصد بازماندگی مربوط به گروه شاهد با $7/22 \pm 87/5$ درصد و میزان بازماندگی در ۲ تیمار دیگر با میزان $4/17 \pm 95/83$ درصد بایکدیگر برابر بود (۱۷). Gomez و همکاران در آزمایشی با سنجش تأثیر باسیلوسهای *B. natto*، *B. subtilis* و *B. licheniformis* را به عنوان پروبیوتیک بر رشد و فعالیت آنزیمهای گوارشی *Litopenaeus vannamei* دریافتند تیمارهای پروبیوتیکی ۱/۵، ۳ و ۶ درصد با $92/66$ ٪ بقاء، بازماندگی بیشتری نسبت به گروه شاهد و $4/5$ ٪ با $83/33$ ٪ بقاء داشتند که البته معنی دار نبود ($P > 0/05$) (۱۸).

Wang و همکاران تأثیر پروبیوتیک تجاری از باسیلوسها را با 10^9 CFU/mL بر روی *Penaeus vannamei* در استخرهای پرورش مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند درصد

در این مطالعه بهترین رشد و بهبود شاخصهای رشدی مربوط به شاه میگوهای تغذیه شده با دو سطح پروبیوتیکی بوده و بالاتر بودن وزن در تیمارهای پروبیوتیکی را می توان در تحقیقات دیگر نیز مشاهده نمود. Rengpipat و همکاران در آزمایش تغذیه ای که روی میگوی *Penaeus monodon* انجام دادند و از *Bacillus S11* به عنوان پروبیوتیک در غذا استفاده نمودند، پس از پایان دوره آزمایش، رشد بیشتری را در میگوهایی که از غذای آغشته به پروبیوتیک تغذیه کرده بودند، در مقایسه با گروه شاهد مشاهده کردند (۱۰). Garriques & Arevalo در هچریهای *Penaeus vannamei* در اکوادور، از *Vibrio alginolyticus* استفاده نمودند و رشد بیشتری را در گروههایی که دارای پروبیوتیک بودند در مقایسه با گروه شاهد، مشاهده نمودند (۱۱). در آزمایشی Naseri با استفاده از پروبیوتیک BioPlus 2B (حاوی *B. subtilis* و *B. licheniformis*) در سطوح ۱٪ و ۰/۷۵٪ غذا در جیره غذایی لارو ماهی قزل آلا رنگین کمان رشد بهتری را نسبت به گروه شاهد مشاهده نمود و در بین دو سطح پروبیوتیکی مصرفی، ماهیهای تیمار پروبیوتیک ۱٪ وزن بالاتری را حاصل نمودند (۱۲). درصد افزایش وزن و ضریب رشد ویژه در تیمارهای پروبیوتیکی نسبت به گروه شاهد بیشتر بود. علت این امر را میتوان به ویژگیهای این نوع پروبیوتیک مرتبط دانست. با توجه به قابلیت تولید ویتامین B₁₂ در باسیلوسها، و نقش مؤثر این نوع کوآنزیمها در چرخه های توالی ATP در سلولها و جذب بیشتر مواد غذایی و در نهایت هضم و رشد بالاتر را می توان به این ویژگی نسبت داد بعلاوه باسیلوسها با سنتز ویتامینها و کوفاکتورها و افزایش فعالیت آنزیمی می توانند فعالیت دستگاه گوارش را بهبود بخشند (۱۳، ۱۴ و ۱۵)، همچنین رشد بیشتر حاصله در دو تیمار پروبیوتیکی را می توان به بهتر شدن فعالیت آنزیمهای گوارشی نظیر پروتئازها که در جذب بیشتر مواد غذایی نیز تأثیر دارند و یا ترشح برخی مواد سودمند برای هضم بهتر مواد غذایی، نسبت داد. از طرفی پروبیوتیک می تواند بر نفوذ پذیری روده نیز تأثیر بگذارد (۱۶). با توجه به ویژگی باکتریهای پروبیوتیکی، ممکن است افزایش ویتامینها، کوفاکتورها و فعالیت آنزیمی باعث هضم بهتر مواد غذایی شده باشد، و نفوذ پذیری بالای روده باعث جذب مواد مغذی و افزایش وزن و رشد ویژه در ماهی شود. این امکان هم وجود دارد که افزایش رشد به علت جایگزین شدن پروبیوتیکها با

عنوان پروبیوتیک در جیره غذایی، شاهد افزایش بازماندگی بودند (۲۱). Mcintosh و همکاران نشان دادند که افزودن پروبیوتیک تجاری HB-1 و HB-2 (حاوی مخلوطی از سویه‌های باسیلوس) به آب محیط پرورش میگوی وانامی تأثیر معنی داری بر درصد بازماندگی، وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی ندارد ($P > 0.05$) (۲۲).

نتیجه گیری

با توجه به به وزن نهایی، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، بازده پروتئین بالا در تیمارهای پروبیوتیکی، پروبیوتیک پروتکسین با دوز ۳ gr/kg می تواند به عنوان یک محرک رشد بطور مؤثری مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از ریاست کارشناسان و کارکنان ایستگاه تحقیقات شیلاتی سفید رود (پل آستانه)، بدلیل در اختیار دادن امکانات و همکاری های لازم، تشکر و قدردانی می شود.

References

- Perez JR, Carral JM, Celada JD, Royuela MS, Munoz C, Sierra A. *Current status of astaciculture production and commercial situation of crayfish in europe*. Aquaculture Europe. 1997; 22(1):6-13.
- Koksal G. *Astacus leptodactylus*. In: Europe. Freshwater crayfish biology, management and exploitation printed in Great Britain at the university press Cambridge; 1988; pp: 365-400.
- Hofman J. *Crayfish biology*. In: European freshwater crayfish. Ackefores, H. (ed.) Losangeles USA; 1980; pp:78-98.
- Ackefores HG. *European freshwater crayfish culture intensification special session of crayfish culture*, Losangeles, USA; 1989; pp: 39.
- Irianto A, Austin B. *Probiotics in Aquaculture*. J Feed Diseases. 2002;25: 1-10.
- Salminen S, Ouwehand AC, Benno Y, Lee YK. *Probiotics: how should they be defined*. Trends Food Sci Technol. 1999; 10: 107-110.
- Fuller R, Perdigon G. *Gut flora*. In: Immunity and health. Blackwell publishing; 2003; pp: 276.
- Farzanfar A. *The use of probiotics in shrimp aquaculture*. FEMS Immunol Medical Microbiol. 2006; 48 (2): 149-158.
- Ali A. *Probiotics in fish farming-evaluation of a candidate bacteria mixture*. Ph.D St. Swedish University of Agriculture Science. 2000.
- Rengpipat S, Phianphak W, Piyatiratitivorakul S, Menasaveta P. *Efects of a Probiotic bacterium on black tiger shrimp (Penaeus monodon) survival and growth*. Aquaculture. 1998; 167: 301-313.
- Garrigues D, Arevalo G. *An evaluation of the production and use of a live bacterial isolate to manipulate the microbial flora in the commercial production of Penaeus vannamei postlarvae in Ecuador*. In: C. L.
- Naseri S. *The effect of probiotic and iron on growth and survival of rainbow larvae*. M.Sc.St. Oncorhynchus mykiss, Walabaum, 2008.
- Fuller R. *Probiotics in man and animals*. J Appl Bacteriology. 1989; 66: 365-378.
- Gatesoupe FJ. *The use of probiotics in aquaculture*. Aquaculture. 1999; 180: 147-165.
- Jory DE. *Use of probiotic in penaeid shrimp growout*. Aquaculture Magazine. 1998; 24:62-67.
- Farzanfar A, Lashto Aghaei G, Alizadeh M, Bayati M, Ghorbani R. *Studi of growth performance of Rainbow trout (Oncorhynchus mykiss), larvae with different coccentration of Probiotic in diet*. In: Proceedings of Aquaculture. SAN ANTONIO, TEXAS, USA. 2007.
- Gullian M, Thompson F, Rodriguez J. *Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in Penaeus vannamei*. Aquaculture. 2004; 233: 1-14.
- Goomez R, Geovanny D, Shen MA. *Influence of Probiotics on the Growth and Digestive Enzyme Activity of White Pacific Shrimp (Litopenaeus vannamei)*. J Ocean Univ Chin. 2008; 7(2):215-218.

بازماندگی با اختلاف معنی داری از 48.67 ± 3.51 درصد در گروه شاهد به 81.0 ± 6.25 درصد در تیمار پروبیوتیکی افزایش یافت (۲۰). Garrigues و Arevalo سویه‌ای از *Vibrio alginolyticus* را بر روی لاروهای میگوی *Litopenaeus vannamei* امتحان کردند در این آزمایش پس از مواجه میگوها با عوامل بیماریزا، هیچگونه مرگ و میری در لاروهای دریافت کننده پروبیوتیک مشاهده نگردید. در حالیکه تیمار شاهد پس از مواجه با سویه *parahaemolyticus* *Vibrio* بعد از ۹۶ ساعت ۱۰۰ درصد تلفات در پی داشت (۱۱). Rengpipat و همکاران لاروهای میگوی ببری سیاه را با آرتمیای حاوی پروبیوتیک باسیلوس S11 تغذیه نمودند و نشان دادند زمان تکامل لاروها کوتاهتر و مشکلات بیماری کمتری داشتند. در آزمایش دیگری پس از ۱۰۰ روز تغذیه با غذای حاوی پروبیوتیک، میگوهای ببری سیاه در معرض سویه بیماریزای *Vibrio harveyi* D331 قرار گرفتند ده روز بعد تمام تیمارهایی که این پروبیوتیک را دریافت کرده بودند ۱۰۰ درصد بازماندگی داشتند، در حالی که گروه شاهد تنها ۲۶ درصد بازماندگی داشت (۱۰). Rengpipat و همکاران در مطالعه ای بر روی ایمنی میگوی ببری سیاه، با *Bacillus* S11 به

- 19- Hung SSO, Lutes PB, Shqueir AA, Conte FS. *Effect of feeding rate and water temperature on growth of juvenile white sturgeon (Acipenser transmontanus)*. Aquaculture. 1993; 115: 297-303.
- 20- Wang YB, Xu ZR, XIA MS. *The effectiveness of commercial probiotics in northern white shrimp Penaeus vannamei ponds*. FISHERIES SCIENCE.2005; 71: 1036-1041.
- 21- Rengpipat S, Rukpratanporn S, Piyatiratitivorakul S, Menasaveta P. *Immunity enhancement in black tiger shrimp Penaeus monodon by a probiont bacterium Bacillus S11*. Aquaculture. 2000; 191:271-288.
- 22- Mcintosh D, Samocha TM, Jones ER, Lawrence AL, Mckee DA, Horowitz S, Horowitz A. *The effect of a commercial bacterial suplement on the high-density culturing of Litopenaeus vannamei with a low- protein diet in an outdoor tank system and no water axchang*. Aquaculture Engineering. 2000; 21:215-227.

