

بررسی اثر غلظت آلژنیک اسید (ارگوسان) بر رشد و بقای پست لاروهای میگوی سفید

هندی (*Fenneropenaeus indicus*)

امیر هوشنگ بحری^{(۱)*}؛ قباد آذری تاکامی^(۲)؛ فلورا محمدی زاده^(۱)

amirbahri52@yahoo.com

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

۲- دانشگاه تهران - دانشکده دامپزشکی - صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۴۵۳

چکیده

محرك های ایمنی یکی از راه های مهم برای جلوگیری از بیماری به شمار می روند. در این تحقیق اثر آلژنیک اسید بر روی فاکتورهای رشد از قبیل طول کل، افزایش وزن خشک و میزان بقا در مرحله پست لاروی PL₁₅ میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) بررسی گردید. اثر آلژنیک اسید ۰/۵ درصد (تیمار ۱)، ۱ درصد (تیمار ۲) و ۲ درصد (تیمار ۳)، بعلاوه یک تیمار شاهد، جهت مقایسه مورد آزمایش قرار گرفت. با در نظر گرفتن ۴ تیمار و ۳ تکرار برای هر یک از آنها، ۱۲ سطل یکسان استفاده شد که به مقدار ۱۰ لیتر آبگیری و با تراکم ۱۰۰ پست لارو مرحله زوآ یک در لیتر ذخیره سازی گردید و لاروهای مورد آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی، تغذیه شدند. دوره آزمایش از مرحله زوآ یک تا PL₁₅ بود که در پایان روز ۲۵ جهت زیست سنجی و تعیین میزان بقا بررسی شدند. نتایج نشان داد که در مرحله پست لاروی PL₁₅ در تیمارهای آزمایشی که از محرك ایمنی استفاده شد طول کل (mm) به ترتیب (۱۷/۱۵، ۱۷/۴۲ و ۱۷/۴۵) بوده و با تیمار شاهد ۱۶/۸۶ که محروم از اضافه شدن محرك به جیره پایه بودند، اختلاف معنی داری را نشان دادند ($P < 0/05$). اما در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($P > 0/05$). در خصوص وزن خشک (mg) نیز در تیمارهای آزمایشی به ترتیب مقادیر (۲/۸۵، ۲/۹۳ و ۲/۹۲) در مقایسه با تیمار شاهد ۲/۷۵ بدست آمد و همچنین میزان بقا به درصد نیز در پایان عملیات در تیمارهای آزمایشی نزدیک به هم (۷۸/۳۳، ۷۶/۳۳ و ۷۹/۶۷) در مقابل مقدار ۶۰/۳۳ برای تیمار شاهد محاسبه گردید که مطالعات اخیر حاکی از آن بود که تیمارهای آزمایشی در هر ۳ غلظت نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معنی داری بودند ($P < 0/05$). هر چند که نسبت به همدیگر تفاوت معنی داری در بین آنها مشاهده نشد ($P > 0/05$). به هر حال استفاده از این فراورده در حداقل میزان در یک برنامه غذایی مطلوب در مرحله پست لاروی، می تواند ایمنی و به تبع آن رشد و بقای پست لاروها را جهت معرفی به استخرهای پرورشی بالا برد.

کلمات کلیدی: آلژنیک اسید، رشد، بقاء، میگوی سفید هندی، *Fenneropenaeus indicus*.

۱. مقدمه

در ۲۰ سال گذشته، همراه با رشد سریع صنعت پرورش میگو، اهمیت بهداشت و همچنین عوامل بیماری‌زا مشخص گردیده است. طبق نظر لایتنر و ردمن (۱۹۹۸) بیش از ۲۰ گونه ویروسی از میگوهای بیمار، مورد شناسایی قرار گرفته‌اند. چندین گونه از باکتری‌ها نیز تشخیص داده شده‌اند که با عفونت‌های سیستمیک یا مرگ و میر میگوها در ارتباط بوده‌اند. گونه‌های ویرویی مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای میکربی برای میگو هستند. آنها میکرب‌آبزی بوده که بطور گسترده در آب‌های شیرین، مصب‌ها و محیط‌های دریایی، پراکنده‌اند و عموماً در تخم سراهای پرورش میگو، رسوبات و استخرهای پرورش میگو مشاهده می‌شوند (۱۵). محرک‌های ایمنی عصاره‌های زیستی و مواد سنتزی می‌باشند که با افزایش عملکرد سلول‌های فاگوسیتیک و فعالیت باکتری‌کشی^۱ و نیز با تولید آنتی‌بادی موجب تحریک پاسخ ایمنی می‌گردند (۱۶). در حقیقت این مواد گلبول‌های سفید را فعال می‌کنند. چنین موادی نه تنها، مقاومت موجود را نسبت به بیماری‌های عفونی بیشتر می‌کند، بلکه خطر شیوع بیماری را کم می‌کنند (۱۵). تحقیقات در زمینه مواد محرک سیستم ایمنی در حال توسعه است و مواد زیادی در حال حاضر در صنعت آبزی پروری استفاده می‌شوند. اثر تحریک‌کنندگی گلوکان، کیتین^۲، لاکتوفرین^۳ و لوامیزول^۴ برای ماهی و میگو گزارش شده است. همچنین فاکتورهای غذایی مثل ویتامین B و C، هورمون رشد و پرولاکتین به عنوان محرک ایمنی گزارش شده‌اند. این محرک‌ها، علاوه بر افزایش عملکرد فاگوسیتوزی و افزایش فعالیت باکتری‌کشی، همچنین بعنوان سلول‌کشنده طبیعی کمپلمان لیزوزیم و پاسخ آنتی‌بادی را تحریک می‌کنند (۱۶). همچنین اثر تحریک‌کنندگی آلژینیک اسید یا ارگوسان نیز در ماهی و میگو گزارش گردیده است (۱۴). از دیگر فواید

محرک‌های ایمنی کاهش مرگ و میر، نسبت به پاتوژن‌های فرصت‌طلب، کاهش مرگ و میر ماهیان جوان و افزایش مقاومت در برابر پارازیت‌ها بوده است. در نتیجه نرخ زنده‌مانی را افزایش می‌دهد (۱۹). تنظیم سیستم ایمنی در قزل‌آلای رنگین‌کمان با تزریق صفاقی ارگوسان نیز مشاهده شد (۹ و ۱۰).

از مزایای مهم دیگر ارگوسان کاهش مرگ و میر مربوط به شیوع بیماری‌های قابل پیش‌بینی همراه با تغییرات فصلی در کیفیت و دمای آب، تراکم و دستکاری آبزی (صید، رقم‌بندی، حمل و نقل آبزی) می‌باشد (۱۷)، زیرا هرگونه استرس بیش از حد موجب تضعیف مقاومت آبزی در برابر عوامل ناخواسته شده و نهایتاً ممکن است، نرخ زنده‌مانی را کاهش دهد (۷).

محرک‌های سیستم ایمنی موادی هستند که گلبول‌های سفید خون را فعال می‌کنند. برخی از محرک‌های ایمنی لنفوسیت‌ها را فعال می‌کنند که نهایتاً عوامل فعال‌کننده ماکروفاژ را می‌سازند (۱۵).

البته میزان لنفوسیت‌ها به تغییرات درجه حرارت آب بستگی دارد به طوری که در فصول سرد سال لیزویم و درصد لنفوسیت‌ها افزایش معنی‌داری را نشان داده است (۵). ترکیبات فعال ارگوسان، تکثیر لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها و تولید سیتوکین‌ها و لیزوزیم را افزایش می‌دهد (۱۷).

در تحقیق دیگر، آلژینات به عنوان محرک و تنظیم‌کننده ایمنی به صورت کپسوله‌مورد مصرف آرتیمیا قرار گرفت و سپس به پست لارو هالیوت *Hippoglossus hippoglossus* خورانده شد و سبب افزایش مقاومت در برابر بیماری ویبریوزیس گردید (۱۸). نتایج مشابه، در میگوهای که در محلول سوسپانسیون گلوکان با غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر غوطه‌ور بوده‌اند، بدست آمده و حاکی از آن است که مقادیر فوق نسبت به غلظت‌های کمتر مثل ۰/۲۵ میلی گرم بر لیتر و گروه‌های شاهد، رشد بسیار بهتری داشته‌اند (۱۹ و ۲۰). بونیا راتپالین و همکاران (۱۹۹۵) گزارش نمودند که میگوهای ببری‌مورد تغذیه، با غذای مکمل حاوی پپتیدو گلیکان (PG) رشد بهتر و

^۱ -cytotoxic^۲ - Chitin^۳ -Lactoferrin^۴ -Levamisole

آکواک ارگوسان^۶ یک محصول کاملاً طبیعی است و بعنوان یک افزودنی خوراکی پذیرفته شده است. تنظیم کننده ها و تحریک کننده های دستگاه ایمنی می توانند نقش مهمی در آبرزی پروری داشته باشند. استفاده از آنها سبب افزایش پاسخ ایمنی غیراختصاصی و بهبود پاسخ ایمنی اختصاصی علیه عوامل بیماری زای مختلف می گردند. ضمن آنکه می تواند پاسخ ایمنی را در حیواناتی که دستگاه ایمنی آنها ضعیف و یا در حال تکمیل است (بچه ماهی، میگوها) افزایش دهد.

از آنجائی که پرورش میگو در مراحل لاروی و پست لاروی بسیار حساس و مهم بوده و اغلب، تلفات عمده ای در این مراحل دیده می شود، لذا به دلیل امکان بروز بیماری، عدم رشد کافی و تولید کم محصول در شرایط کنونی کشور، یکی از مواردی که می تواند به افزایش رشد و بقای پست لاروهای میگو کمک نماید، در نظر گرفتن مواد بالا برنده ایمنی و مقاومت است. با توجه به موارد ذکر شده در این پژوهش سعی گردید با فرض اضافه کردن درصد های مختلف از آلژینیک اسید مورد آزمایش در ۳ تیمار، اهدافی شامل رشد بیشتر، بقای بالاتر و افزایش تولید و بهترین تیمار، بدست آید. عبارتی مشاهده گردد که آیا غلظت های مختلف ارگوسان اضافه شده به آب و در مراحل پرورش پست لاروی میگوی سفید هندی، سبب افزایش فاکتورهای رشد و بقا خواهد شد یا تأثیر معنی داری نخواهد داشت و در ادامه میانگین تکرارهای هر تیمار بایکدیگر مقایسه شد. در ضمن نتایج این پژوهش بدون تردید به کاهش استفاده از مواد شیمیائی و داروها در آبرزی پروری کمک خواهد نمود و تولیدات با کیفیت مناسب تری را از نظر سلامت تغذیه ای برای مصرف کنندگان ارائه خواهد نمود.

۲. مواد و روش ها

۱- محل اجرای آزمایش

این پژوهش در کارگاه تکثیر هرمز لارو در طول جغرافیایی ۲۸°۱۸'، ۰۱'۵۷ و عرض جغرافیایی ۴۸°۲۶'، ۱۱'۱۱

ضریب تبدیل غذایی^۵ بهتری را نسبت به آنهایی که با غذای معمولی تغذیه شدند، داشته اند (۶). اثرات کوتاه و بلند مدت جیره غذایی حاوی بتا-گلوکان حاصل از مخمر و آلژینیک اسید (ارگوسان) در ماهی سی باس نشان داد که رشد و بقا و ضریب تبدیل غذایی در گروه تیمار و شاهد در دوره کوتاه مدت (۱۵ روز جیره حاوی ۰/۵ درصد ارگوسان و ۰/۱ درصد بتاگلوکان) اختلاف معنی داری نشان نداده ولی در بررسی بلند مدت، ضریب رشد ویژه، اختلافات زیادی در طی دوره آزمایش نشان داده است (۲۴۰ روز پس از پایان ۴ سیکل تغذیه از ارگوسان) ضریب رشد ویژه تا اندازه ای در ماهی تیمار بالاتر بود ولی اختلاف معنی دار، نبوده است و در دیگر فاکتورها، اختلاف معنی داری وجود نداشت (۵). در ماهی *Dentex dentex* و در ماهی آزاد اطلس نیز، استفاده از ارگوسان در درجه حرارت ۱۴ درجه سانتیگراد بیشترین رشد را نشان داده اند. بنابراین مواد محرک ایمنی در طی فصول سرد که درجه حرارت آب پایین بوده و ماهی تغذیه نمی کند می تواند اثر مثبتی داشته باشد (۵).

آلژینیک اسید یا ارگوسان از چندین جنس جلبک قهوه ای مثل *Ascophyllum*، *Laminaria*، *Macrocystis* می تواند مشتق شود (۱۷). ارگوسان مورد استفاده در این پژوهش محتوی یک درصد آلژینیک اسید از جنس *Laminaria digitata* یا *Ascophyllum nodosum* است. بنا بر نظر لوئیس (۱۹۹۰) مهمترین آلژینات جهان از *Ascophyllum nodosum* و *Macrocystis pyrifera* عصاره گیری می شود (۱۲). در پستانداران آلژینات و آلژینیک اسید، اثرات بیولوژیکی مهمی مثل افزایش دفع کلسترول و پذیرش گلوکز (۱۱)، جلوگیری از تکثیر سلول های ماهیچه ای صاف، سرکوب کردن تکثیر سلول های فیروبلست و تشکیل کلاژن در پوست و جلوگیری از آزادسازی هیستامین از ماهیچه دارند (۱۰).

Archive of SID

وابسته به بخش خصوصی واقع در ۳۵ کیلومتری شهرستان میناب) بخش کوهستک) در استان هرمزگان انجام شد.

۲- پرورش پست لاروهای میگوی سفید هندی

جهت فراهم نمودن لاروهای مورد نیاز ۵ مولد ماده پرورشی جفت گیری کرده (اسپریم دار) با وزن متوسط ۴۰ گرم که براساس صفات ظاهری در مرحله ۴ رسیدگی جنسی بودند (۱)، انتخاب گردیدند و بعد از انجام مراحل تخم ریزی، لاروهای حاصل تا مرحله پروتوزوآ I در تانک های ۳۰۰ لیتری و در اطاق تخم ریزی نگهداری شده و آنگاه به سطل های ۲۰ لیتری که جهت آزمایش تهیه شده بودند، منتقل شدند (۳). برای این منظور یک روز قبل از شروع آزمایش و ذخیره سازی لاروها، کلیه ظروف با آب فیلتر شده دریا، آبگیری شدند. این آب با شوری ۳۲-۳۰ قسمت در هزار که هوادهی دائمی در آنها برقرار بود به میزان ۱۰ لیتر آبگیری شده و به نسبت ۱۰۰ زوا در لیتر ذخیره سازی گردیدند (۱، ۲ و ۳). در این زمان، لاروها به طور یکسان ۶ نوبت در روز با جلبک *Chaetoceros sp.* (جیره غذایی پایه یکسان در کلیه تیمارها) تغذیه شدند. ناگفته نماند که در انتهای مراحل ناپلیوس تا مرحله زوآ I به هر ظرف در هر نوبت غذایی، ۱۰ میلی لیتر از محلول کشت جلبکی (کتوسروس) که به شکوفایی پلانکتونی رسیده بود اضافه شد و در مراحل بعدی این میزان به ۲۰ میلی لیتر در هر نوبت رسید. تراکم جلبکی تقریباً $10^6 \times$ بود (۱). پس از مرحله مایزیس I تا PL₁₅ کم کم ناپلی آرتمیا به همراه غذای کنستانت به غذای لاروها و سپس پست لاروها اضافه گردید. میزان غذادهی با ناپلی آرتمیا در مراحل اولیه ۴-۳ ناپلی به ازای هر پست لارو در هر نوبت بود و در مراحل بعدی به ۱۰-۸ ناپلی به ازای هر پست لارو افزایش یافت (۱).

همچنین با توجه به نوع تیمارها، غلظت های مختلف از آلژینیک اسید (ارگوسان)، بر اساس دستور العمل شرکت سازنده استفاده شد. مقادیر مورد نظر ارگوسان بر اساس دستور العمل موسسه تولید کننده (Schering-Plough) در دوران لاروی از مرحله زوآ II تا PL₁ به لاروها و همچنین به مدت ۱۰ روز از زمان PL₂ تا PL₁₂ به پست لاروها خوراندند (۱۷). همچنین سعی گردید تا از

بروز استرس قبل و بعد از استفاده از محرک ایمنی جلوگیری شده، میگوها در شرایط بهداشتی خوب نگهداری شده و نیز از خوراک خوب و بالانس شده در کل دوره پرورش برخوردار باشند. غذای پایه PL، از نوع Epac classic و ترکیب آن شامل ۴۵٪ پروتئین، ۷٪ چربی، ۳٪ فیبر و ۱۰٪ رطوبت بوده که به میزان ۲۰-۵ گرم به ازای هر ۱۰۰۰۰۰ پست لاروزانه حداقل ۴ بار مورد استفاده قرار گرفت (۱). تا مرحله مایزیس I هیچگونه تعویض آبی صورت نپذیرفت و هوادهی نیز بطور دائم از طریق سیستم هوادهی مرکزی و با نصب شیلنگ های ویژه و سنگ هوا در هر ظرف جهت تعلیق یکنواخت (۴)، انجام گرفت.

با شروع مرحله مایسیس روزانه حدود ۳۰ درصد آب تعویض گردید که به مرور زمان این مقدار افزایش یافت و در نهایت به حدود ۷۰ درصد رسید (۲ و ۳).

۳- بررسی عملکرد رشد و بقاء پست لاروها

در این مرحله، فاکتورهای رشد شامل طول کل (فاصله نوک روستروم تا انتهای تلسون بر حسب میلی متر)، و وزن خشک (بر حسب میلی گرم)، همچنین درصد زنده مانی پست لاروها در مرحله PL₁₅ بر اساس ذخیره سازی اولیه پست لاروها مورد سنجش قرار گرفت. لازم به ذکر است که از هر تکرار ۲۰ پست لارو بصورت تصادفی برداشت شده و شاخص های رشد در آنها محاسبه گردید (۲). جهت اندازه گیری طول کل از میکرومتر چشمی و کولیس استفاده گردید سنجش وزن خشک نیز بدین صورت بود که پس از سنجش طول کل، آنها را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۵۵ درجه قرار داده و پس از آن تا روز بعد در دسیکاتور گذاشته و آنگاه با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم با مارک Startorius, 210 S, Model: BL ساخت آلمان نسبت به توزین آنها اقدام گردید و سپس میانگین ۲۰ نمونه اشاره شده بر اساس میلی گرم ارائه گردید (۲ و ۳). در طول دوره آزمایش، میزان دما، اکسیژن محلول، شوری و pH به صورت روزانه در ۲ نوبت ساعت ۸ صبح و ساعت ۸ شب اندازه گیری و ثبت گردید. که تمام این موارد توسط دستگاه چندمنظوره شامل اکسیژن متر، pH متر،

شوری سنج و ترمومتر دیجیتالی Multi340i/SET بامارک (WTW) ساخت آلمان انجام گرفت.

۴- تجزیه و تحلیل آماری

در این آزمایش تعداد ۱۲ عدد سطل ۲۰ لیتری با توجه به وجود چهار تیمار و سه تکرار برای این آزمایش انتخاب و استفاده شد که در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به ترتیب زیر ایجاد و اجرا گردید.

۱- تیمار شاهد: پست لاروهایی که با روش جاری تخم سرای میگوی نامبرده مورد تغذیه قرار گرفتند.

۲- تیمار ۱ (ارگوسان ۰/۵ درصد): پست لاروهایی که به جیره غذایی آنها ارگوسان به میزان ۰/۵ درصد جیره و ۴ مرتبه در روز اضافه گردید.

۳- تیمار ۲ (ارگوسان ۱ درصد): پست لاروهایی که به جیره غذایی آنها ارگوسان به میزان ۱ درصد جیره و ۴ مرتبه در روز اضافه گردید.

۴- تیمار ۳ (ارگوسان ۲ درصد): پست لاروهایی که به جیره غذایی آنها

ارگوسان به میزان ۲ درصد جیره و ۴ مرتبه در روز اضافه گردید. داده های اندازه گیری شده با آنالیز واریانس یک طرفه (One Way- ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و سپس توسط آزمون چند دامنه ای دانکن، مقایسه میانگین هادر سطح خطای آماری ۰/۰۵ صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از برنامه های SPSS و EXCEL انجام گردید.

۳. نتایج

۱- میانگین طول کل پست لاروها (بر حسب میلی متر)، وزن خشک پست لاروها بر حسب میلی گرم و درصد بقا بر حسب درصد در بین تیمارها در مرحله PL₁₅ جدول (۱) ارائه شده است. در مرحله PL₁₅ مشخص گردید که میزان طول پست لاروها (بر حسب میلی متر) در بین تیمار شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند (شکل ۱). بیشترین مقدار برای طول کل مربوط به تیمار ۳ بوده که با تیمار شاهد دارای اختلاف معنی داری است ($P < 0.05$).

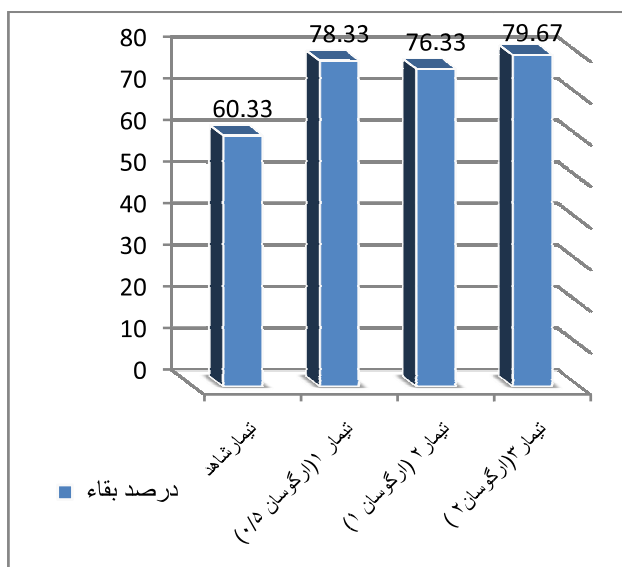
جدول ۱: مقایسه (انحراف معیار \pm میانگین) شاخص های رشد و بقا در پست لاروهای میگوی سفید هندی در تیمارهای مختلف (با استفاده از آزمون دانکن در سطح اعتماد ۹۵٪)

فاکتورهای زیستی تیمارها	طول کل (mm) در مرحله PL ₁₅	وزن خشک (mg) در مرحله PL ₁₅	بقا (درصد) در مرحله PL ₁₅
تیمار شاهد	۱۶/۸۶ \pm ۰/۲۹ ^b	۲/۷۵ \pm ۰/۱۳ ^b	۶۰/۳۳ \pm ۴/۷۳ ^b
تیمار ۱ (آلژنیک اسید ۰/۵ درصد)	۱۷/۱۵ \pm ۰/۱۷ ^a	۲/۸۵ \pm ۰/۰۸ ^a	۷۸/۳۳ \pm ۵/۲۱ ^a
تیمار ۲ (آلژنیک اسید ۱ درصد)	۱۷/۴۲ \pm ۰/۲۰ ^a	۲/۹۳ \pm ۰/۰۴ ^a	۷۶/۳۳ \pm ۴/۰۳ ^a
تیمار ۳ (آلژنیک اسید ۲ درصد)	۱۷/۴۵ \pm ۰/۰۴ ^a	۲/۹۲ \pm ۰/۱۶ ^a	۷۹/۶۷ \pm ۴/۲۵ ^a

اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند و حروف همانند تفاوت آماری معنی دار ندارند ($P < 0.05$) (تعداد تکرار در هر گروه $n=3$ می باشد).

Archive of SID

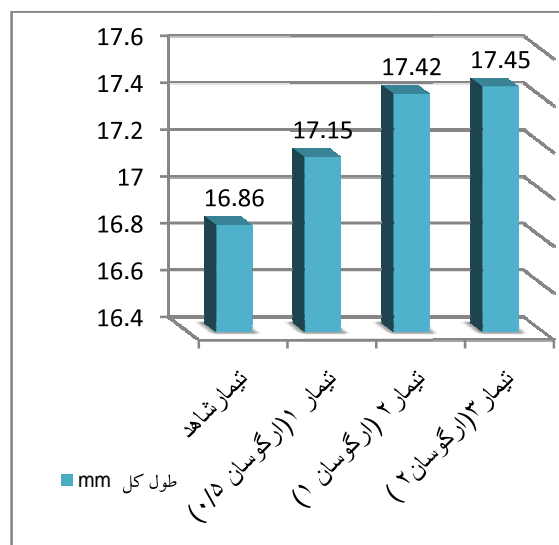
۳- میانگین درصد بقای پست لاروها در بین تیمارها (جدول ۱) در مرحله PL₁₅، نتیجه نشان داد، که تیمارها در سطح $P < 0.05$ اختلاف معنی داری داشتند. بیشترین مقدار باز مربوط به تیمار ۳ بوده که فقط نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی داری داشت. اما سایر تیمارهای آزمایشی نسبت به هم تفاوت معنی داری نداشتند ($P > 0.05$).



شکل ۳: مقایسه بقاء (درصد) پست لاروهای میگوی سفید هندی در تیمارهای مختلف

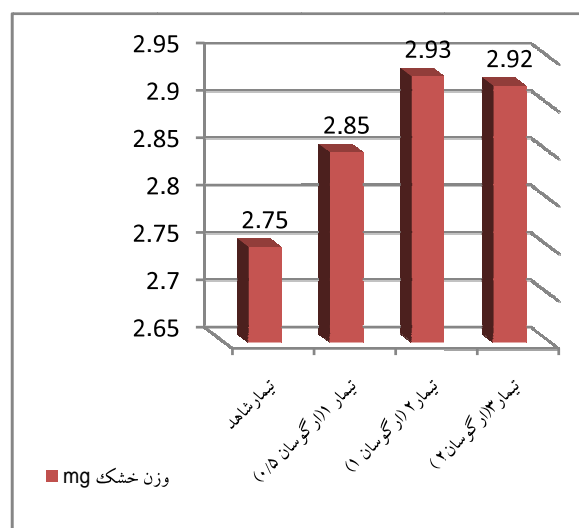
۳. بحث

نتایج این پژوهش مشخص نمود که از مرحله زوآ II تا PL₁₅ بیشترین مقدار فاکتورهای رشد مانند طول کل و وزن خشک مربوط به تیمارهای آزمایشی شده بوده و با تیمار شاهد تفاوت معنی داری داشتند ($P < 0.05$). به عبارتی می توان گفت تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد، اندازه مناسب تری را دارا بودند. این موضوع حاکی از آن است که مراحل ابتدایی پرورش لاروهای میگوی سفید هندی یعنی از مرحله زوآ II تا PL₁₅ بدلیل ضعیف بودن سیستم ایمنی بدن، شاخص های رشد و مقدار زنده مانی در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دیگر پایین تر بوده است.



شکل ۱: مقایسه طول کل (میلیمتر) پست لاروهای میگوی سفید هندی در تیمارهای مختلف

۲- میانگین وزن خشک پست لاروها (بر حسب میلی گرم) در بین تیمارها (جدول ۱) در مرحله PL₁₅ در سطح $P < 0.05$ نشان داد که میزان وزن خشک پست لاروها (بر حسب میلی گرم) در بین تیمارهای آزمایشی با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشت اما تیمار شاهد دارای اختلاف معنی داری بودند (شکل ۲). بیشترین مقدار برای وزن خشک مربوط به تیمار ۲ بوده که نسبت به تیمار ۳ تفاوت معنی داری نداشته اما تیمارهای ۱ و ۲ و ۳ با تیمار شاهد تفاوت معنی داری را نشان دادند.



شکل ۲: مقایسه وزن خشک (میلی گرم) پست لاروهای

میگوی سفید هندی در تیمارهای مختلف

محلول ۵/۷-۶/۲ میلی گرم بر لیتر، pH ۸/۲۰-۸/۳۲ و شوری ۳۱/۹-۳۲/۱ قسمت در هزار بود. نتایج نشان داد که افزودن ارگوسان تاثیری بر پارامترهای کیفی آب از جمله اکسیژن محلول، شوری، دما و pH نداشته است. البته بدست آمدن چنین نتایجی چندان غیرمنتظره نبود، چرا که مثلاً بطور دائمی و ثابت، هوادهی در ظروف پرورشی لاروی ها و پست لاروها انجام گردید.

مونتر و همکاران در سال ۲۰۰۵ با مطالعه‌ای که بر روی میگوی سفید غربی داشته‌اند به این نتیجه رسیدند که اثر واکسن و ارگوسان بصورت توأم، اثر بخشی بهتری داشته که زمان تجویز واکسن را از مراحل PL₄ تا PL₁₄ عنوان نمودند یعنی در حین استفاده از واکسن، ارگوسان نیز به پست لاروها خورانده می‌شد که با یافته‌های اینجانب در تیمار ۳ آزمایش نیز مطابقت دارد. یعنی با توجه به خاصیت هم یاری (Synergistic) ارگوسان با واکسن، تیمار مربوطه، از درصد بقا و شاخص های رشدی بالاتری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود.

در بررسی دیگری، مونتر و در سال ۲۰۰۵ گزارش کرد که اضافه کردن ارگوسان به جیره غذایی، باعث پوست اندازی میگوی سفید بالغ بعد از ۱۵ روز شد. به طوری که ۰/۵ درصد ارگوسان در جیره غذایی می تواند باعث افزایش وزن و طول شد و همبستگی معنی داری بین رشد و مقدار ارگوسان وجود داشت (۱۴).

همچنین قابل ذکر است که بین رشد و بقای پست لاروها در بین تیمارهای مختلف، ارتباط مستقیمی دیده شد. عبارتی با افزایش فاکتورهای رشد، بر مقدار درصد بقا نیز افزوده گردیده.

نتیجه گیری کلی

۱- از آنجا که پست لارومیکوها، همواره در مواجهه با گونه‌هایی از عوامل فرصت طلب و اختصاصی بیماری زا مانند ویروس لکه سفید تا عوامل باکتریایی از قبیل گونه های *Vibrio* و *Pseudomonas* می باشند. استفاده از ارگوسان بعنوان مکمل تغذیه لاروهای میگو، توصیه می گردد، همچنین کارآیی ارگوسان با حداقل غلظت یعنی ۰/۵ درصد جیره، در پرورش پست لاروهای میگوی سفید هندی به مراتب بیشتر از تیمار شاهد بود که موجب

لاروهای میگو از مرحله زوآ دارای رفتار فیلترکنندگی بوده و از جلبک‌هایی که اندازه آنها ۲۰-۵ میکرون می‌باشد تغذیه می‌نمایند و از زیر مرحله زوآ II کم رفتارهای صیادی در آنها دیده شده که می‌بایستی از مراحل زوآ II و III در کنار جلبک‌ها از ناپلی آرمیا نیز استفاده نمود. همچنین از مراحل مایسیس و ابتدای پست لاروی کاملاً شکارچی بوده که از غذای زنده جانوری تغذیه می نمایند. زنده مانی پایین لاروها در مراحل زوآ را به اندازه کوچک آنها نسبت می دهند.

در پایان دوره یعنی PL₁₅ بیشترین رشد و بقا مربوط به تیمار ۳ بوده و تفاوت آن با تیمار شاهد در سطح $P < 0/05$ معنی دار بود. بدین معنی که پست لاروهای تغذیه شده با ارگوسان، بقای بالقوه‌ای نسبت به آنهایی که جیره‌های غذایی محروم از ارگوسان (شاهد) نشان دادند که این مورد تایید یافته‌های مرحله قبلی می‌باشد. بعلاوه اینکه اندازه مناسب تر و درصد باز ماندگی بالاتر لاروها در این سه تیمار قابل ذکر است. یعنی پست لاروهای که از نظر رشد وضعیت بهتری دارند، زنده مانی بیشتری را نیز نشان دادند.

بنابر این در این مرحله از رشد میگوها (از مرحله PL₂ به بعد) به علت اینکه خاصیت پالایش گری میگوها از بین رفته و میگوها کم کم حالت شکارچی به خود می‌گیرند، بنابراین افزودن محرک ایمنی می‌تواند اثرات مستقیم بهتری جهت زنده مانی داشته باشد.

نتایج آزمایش فارمی که در کارگاه زادآوری مند واقع در استان بوشهر توسط نگارنده بر روی پست لاروهای میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) مورد تغذیه با واکسن+ارگوسان در مراحل PL₁، PL₅ و PL₁₅ انجام گرفت، نشان داد فاکتورهای رشد و زنده مانی تمام تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی داری داشتند ($P < 0/01$).

در این تحقیق کلیه پارامترهای کیفی آب در دامنه مطلوب جهت تکثیر لاروی و پرورش پست لاروی میگوی سفید هندی قرارداد داشت. دامنه تغییرات دما، ۲۹/۸-۳۱ درجه سانتیگراد، اکسیژن

Marino. 2004. Short and long term effect of dietary yeast B- glucan (Macrogard) and algenic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Fish & Shellfish Immunology, 311-325pp.

6-Boonyaratpalin, M., K. Supamataya and Y. Toride. 1995. Effect of peptidoglycan (PG) on growth, survival, immune responses and tolerance to stress in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, In: Shariff. M., Subasighe, R.P., Arthur, J.R. (Eds), Diseases in Asian Aquaculture. Vol. 11. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. pp: 469-477.

7-George, I. and Teroki, N. 1999. Fish immune system organism, pathogen and environment, Academic Press. 140 pp.

8-Itami, T., Y. Takahashi and Y. Nakamura. 1989. Efficiency of vaccination against vibriosis in cultured kuruma prawns *Penaeus japonicus*. J. Aquatic Animal Health 1:238-242

9-Itami, T., Y. Takahashi, E. Tsuchihira, H. Eguse and M. Kondo. 1993. Enhancement of disease resistance of kuruma prawn *penaeus japonicus* and increase in phagocytic activity of prawn hemocytes oral administration of β -1, 3 glucan (schizophyllan). pp: 375-378.

10-Kawada, A., N. Hiura, S. Tajima and H. Takahara. 1999. Alginate oligosaccharides stimulate VEGF- mediated growth and migration of human endothelial cell. 291: 542-547.

11-Kimura, Y., K. Watabe and H. Okuda. 1996. Effect of soluble sodium alginate on Cholesterolexcerptin and glucose tolerance in rats. I. Ethnopharmacol. 54: 47-54

12-Lewis, J. G. , N. F. Stanley and G. G. Guist. 1990. Commercial production and applications of algal hydrocolloids. Combridge University Press. 235 pp.

13- Miles, D. J. C., J. Polchana, J. Lillet, S. Kanchanakhan, K. D. Thompson and A. Dams. 2001. Immunostimulation of striped snake head (*Channa striata*) against epizootic ulcerative syndrome. Aquaculture 195:1-15.

افزایش شاخص های رشد و درصد بقا در پست لاروهای میگوی سفید هندی شده و تلفات در این تیمار نسبت به بقیه کاهش بسیار معنی داری داشت.

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله از زحمات بیدریغ گروه دارو گستر به دلیل در اختیار قرار دادن مواد مورد آزمایش و تامین بودجه و نیز مسئولان مرکز تکثیر هرمز لارو آقایان مهندس سردار زاده ومهندس هراجی و کلیه پرسنل زحمتکش مرکز وجناب آقای دکتر قاسمی و همچنین سازمان دامپزشکی استان هرمزگان که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند، قدردانی می گردد.

منابع

۱-ضیائی نژاد، س. ۱۳۸۲. تاثیر باکتری های باسیلوس به عنوان پروبیوتیک بر رشد، بازماندگی و تغییرات آنزیمهای گوارشی مراحل پست لاروی و پست لاروی میگوی سفید هندی. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران.

۲-یحیوی، م. ۱۳۸۴. بررسی تغذیه پست لاروی میگوی سفید هندی از روتیفر غنی شده با ویتامین C و اسیدهای چرب غیر اشباع (DHA,EPA) و تاثیر آن بر روی فاکتورهای رشد، بازماندگی و استرس های محیطی. رساله دکتری شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات.

۳-یحیوی، م، ق. آذری و غ. وثوقی. ۱۳۸۵. بررسی مقاومت به استرس های شوری و فرمالین در پست لاروهای میگوی سفید هندی تغذیه شده از روتیفرهای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع (DHA,EPA) و ویتامین C. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. دانشگاه صنعتی اصفهان. ۴(۲):ص ۵۱۹ تا ۵۳۱.

4- Azari Takami, G., H. Mahmoodzadeh and Z. Grailou. 2001. Survey of the stability of n-3 highly unsaturated fatty acids following enrichment of *Artemia* by various oil and subsequent starvation. International Workshop on *Artemia* , Urmia, Iran. 12 – 15 May 2001 , pp: 13 – 14 .

5-Bagni, M., N. Marino, M. Finoia , G. Abelli, L. Scapiogliati , G. Tiscar and G. www.SID.ir

Archive of SID

- 14- Montero, R. A., D. McIntosh, R. Sanchez and I. Felores. 2005. Immunostimulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following dietary administration of Ergosan. Journal of Invertebrate Pathology. 91: 188-194.
- 15-.Raa, J. 2000. The use of stimulants in fish and shellfish feeds. University of Troms. Norway. 240pp.
- 16-Sakai, M. 1998. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture. 172: 63-92.
- 17-Schering plough animal health aquaculture corporation. 2005. Union, New Jersey. Brief about Aquavac Ergosan and Aquavac VibromaxVaccine. (www.spaquaculture.com).
- 18-Skjermo, J., Q. Bergh. 2004. High-M alginate immunostimulation of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) larvae using *Artemia* for delivery increase resistance against vibriosis. Aquaculture. 238:107-113.
- 19- Sung, H. H., Y. L. Song and G. H. Kou. 1991. Potential uses of bacterin to prevent shrimp vibriosis. Fish Shellfish Immunol. 1:311-312.
- 20-. Sung , H.H., G.H. Kou, and Y.L. Song .1994 . Vibriosis resistance induced by glucan treat shrimp (*penaeus monodon*) via immunostimulation. J. Crust . Biol.16: 279-285.
- 21-Teunissen, O.S.P. R. Faber, G.H.R. Booms, T.Latscha, and J.H. Boon. 1998. Influence of vaccination on vibriosis resistance of the giant black tiger shrimp *penaeus monodon* (Fabricius).Aquaculture 164: 359-366.

The Study of Alginic Acid amounts(Ergosan) Effects on Growth and Survival Rates in Indian White Shrimp Post larvae.

(*Fenneropenaeus indicus*)

Bahri A.H.^{*(1)}; Azari Takami GH.⁽²⁾; Mohammadizadeh F.⁽¹⁾

amirbahri52@yahoo.com

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

2-Professor of Aquatic Health & Diseases, Faculty of Veterinary Medicine
,University of Tehran,P.O.Box: 14155-6453

Abstract

Immunostimulants are one of the important ways to prevent diseases. In this research, effects of Ergosan on the growth factors such as total length and increasing of dry weight and survival rates in stage of post larvae PL₁₅ in Indian white shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) was studied. The effects of Ergosan(0.5 %) (T₁) Ergosan(1 %) (T₂) Ergosan(2 %) (T₃) along with a control treatment for comparison was used. Taking into consideration of 4 treatments and 3 replication for each of them, 12 similar vessels were used, which in amounts of 10 liters were refilled with water and reserved with 100 larvae in liters in zoa stages and were fed in a completely randomized design. Duration of experiment was zoa stage to PL₁₅ that in the end of 25 days for the biometry and determination of survival rates were studied. Results showed that the highest amount of total length (mm) observed in PL₁₅ stage in T₃ (17.45,17.42,17.15) which had a significance difference in regard to the control treatment(16.86) at P<0.05 level. The highest amount of dry weight (mg) observed in PL₁₅ stage in treatments respectively(2.92,2.93 and 2.85) that against of control treatment (2.75) had a significance difference (P<0.05).The highest amount of survival rates (%) observed in T₃ (79.67,76.33 and78.33) that against of control treatment (60.33) had a significance difference (P<0.05). The use of this product in a desired feeding program from zoa stage to PL₁₂ could increase the resistance and immunity in post larvae as increasing in amount of survival rates and growth factors in shrimps that led to produce suitable post larvae for introducing into the training ponds.

Keywords: Alginic acid,Growth, Survival, Indian white shrimp.