

بررسی اثربخشی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دستگاه گوارش میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) روی درصد بقا و رشد آن در شرایط آزمایشگاهی

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تاثیر باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و غلظت مناسب آن روی درصد بقا و رشد میگوی جوان (*Litopenaeus vannamei*) اجرا گردید. در این آزمایش لاکتوباسیلوس جدا شده از دستگاه گوارش میگوی جوان به غذای تجاری پلت میگو به عنوان پروبیوتیک اضافه گردید. با خیساندن غذای میگو در سوسپانسیون لاکتوباسیلوس، نوع جیره با غلظت‌های مختلف لاکتوباسیلوس در پلت شامل 10^{10} ، 10^9 ، 10^8 ، 10^7 ، 10^6 و کنترل، درون باکتری لاکتوباسیلوس تهیه شد. پس از ۶۰ روز غذادهی با این تیمارها، بچه‌میگوهایی که با لاکتوباسیلوس با غلظت 10^8 تغذیه شده بودند، بیش‌ترین افزایش وزن را از خود نشان دادند. میانگین افزایش وزن در تیمارها هر چه از غلظت 10^8 به 10^6 و هر چه از غلظت 10^8 به 10^{10} در جیره‌ها رفته، میانگین وزن روند نزولی نشان داد. همچنین در افزایش وزن، جذب غذا، رشد روزانه و ضریب تبدیل غذایی بین تیمارها و کنترل، اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد ($P < 0.05$). این درصد بقا بین کنترل و تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری را نشان داد، اما در کیفیت آب و ترکیب بیوشیمیایی میگو بین کنترل و تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری وجود نداشت ($P > 0.05$). با اضافه کردن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس رشد و درصد بقا میگوی جوان را به‌طور معنی‌داری بهبود بخشید ($P < 0.05$). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که باکتری آزمایش شده می‌تواند به‌صورت یک پروبیوتیک با غلظت 10^8 سلول در گرم، در غذای میگوی جوان به‌کار رود.

واژگان کلیدی: لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، پروبیوتیک، درصد بقا، *Litopenaeus vannamei*.

مهدی حیدریان^{۱*}
مهران آوخ کیسمی^۲
غلامحسین محمدی^۳

۱. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، اهواز، ایران
۲. دانشگاه جامع علمی کاربردی، استادیار گروه شیلات، بوشهر، ایران
۳. موسسه تحقیقات آبی‌پروری جنوب کشور، استادیار بخش ارزیابی ذخایر، اهواز، ایران

* مسئول مکاتبات:

mehdi1168@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۴/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۸/۱

مقدمه

بزرگ‌ترین فایده استفاده از پروبیوتیک در آبی‌پروری، بهبود جذب غذا، اثر بخشی غذا، درصد غذا، و کاهش ضایعات غذا و آلودگی آب پرورش است (Verschuere et al., 2000). از مشکلات آبی‌پروری این است که با افزایش پرورش متراکم آبیازان، شیوع بیماری‌ها و عوامل بیماری‌زا در آبی‌پروری گسترش می‌یابد. در حال حاضر به منظور کنترل بیماری‌ها و عوامل بیماری‌زا استفاده از طیف وسیعی از داروهای شیمیایی منجر به ایجاد مقاومت دارویی می‌گردد (Scan, 2003). برای حل این بحران تاکید بر بهبود پرورش از طریق تغذیه، کیفیت آب، کاهش ضایعات غذا با استفاده از پروبیوتیک است. پروبیوتیک‌ها موجوداتی هستند که به تعادل میکروبی روده کمک

میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) یکی از محصولات باارزش بالای آبی‌پروری است. تولید متراکم میگوی پا سفید غربی در سال‌های اخیر در سراسر جهان در حال گسترش است (FAO, 2007). در حال حاضر هزینه غذای پرورش، بیش از ۴۰ درصد از هزینه پرورش میگوی پا سفید غربی را در برمی‌گیرد (New et al., 2010). بدین منظور استفاده از پروبیوتیک (*Probiotic*) در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Verschuere et al., 2000; keysami et al., 2007).

تاثیر باکتری‌های پروبیوتیک بایستی ابتدا در شرایط آزمایشگاهی و سپس در شرایط کارگاهی آزمایش شود. از طرف دیگر اگر قرار است پروبیوتیک از راه غذا مصرف شود، باید آن را هم در غذا و هم در محیط پرورش آبی وارد نمود و اثر بخشی آن روی رشد و درصد بقاء آبی ارزیابی گردد. گرچه اثربخشی لاکتوباسیلوس قبلاً در ماهی، دام و ماکیان آزمایش شده، ولی اثر بخشی آن در آبیان و غلظت موثر آن برای استفاده در آبیان از اهمیت خاصی برخوردار است (Keysami *et al.*, 2007). بدین منظور این تحقیق برای بررسی اثر بخشی و پیدا کردن غلظت موثر لاکتوباسیلوس در افزایش رشد و درصد بقاء میگوی پا سفید غربی طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

در مجموع ۷۲۰ میگوی جوان سالم از هجری مرکز آموزش عالی علوم و صنایع شیلاتی خلیج فارس بوشهر در سال ۱۳۹۰ جمع‌آوری و توزین گردیده و در ۱۸ مخزن آکواریوم ۸۰ لیتری به ابعاد ۳۰×۳۰×۸۰ سانتی‌متر به میزان ۴۰ میگو در هر آکواریوم ذخیره سازی گردیدند. پس از خشک کردن، میگوها با ترازوی دیجیتال با حساسیت ۰/۰۱ گرم توزین شدند. وزن متوسط پست لاروها در شروع آزمایش در ۳ آکواریوم گروه شاهد ۶/۸ ± ۱۶۳/۶۳ میلی‌گرم بود. وزن متوسط پست لاروها در تیمارهایی که لاکتوباسیلوس به آن‌ها اضافه شد ۳/۸۶ ± ۱۶۳/۲۳ بود که با میانگین وزنی گروه شاهد اختلاف معنی‌دار آماری نداشت. میگوهای جوان به منظور سازگاری با شرایط آزمایش به مدت یک هفته ۳ وعده در روز با غذای پلت (کارخانه هوراش بوشهر) غذادهی شده و در شرایط آزمایش نگهداری شدند. این آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار اجرا گردید (جدول ۱).

می‌کنند. بیش‌تر پروبیوتیک‌ها باکتری‌های طبیعی روده‌ها هستند که در دستگاه گوارش مستقر شده و آنزیم‌های گوارشی و فلور طبیعی دستگاه گوارش را افزایش می‌دهند، بدین ترتیب مقاومت بدن میزبان را در برابر بیماری‌ها بالا می‌برند. بیش‌تر پروبیوتیک‌ها به‌صورت زنده به غذا اضافه شده و بایستی بتوانند در دستگاه گوارش میزبان زنده بمانند (Verschuere *et al.*, 2000). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیزم‌های زنده هستند که وقتی به میزان کافی، یعنی با غلظت موثر مصرف شوند، می‌توانند مفید واقع شوند (FAO/WHO, 2001).

در صنعت آبی‌پروری، گونه‌های پروبیوتیک متعددی مصرف می‌گردد که شامل لاکتوباسیلوس (*Lactobacillus*) (Abraham, 2008)، ساکارومایسیس (*Saccharomyces*) (Rumsey *et al.*, 2007)، باسیلوس (*Bacillus*) (Balcazar *et al.*, 2007; Meunpol *et al.*, 2003; Keysami *et al.*, 2007) و مخلوط باکتری‌ها (Sotomayor 2003; Salinas *et al.*, 2005; Aley *et al.*, 2008) می‌باشند.

به وضوح معلوم است که بزرگ‌ترین دسته باکتری‌هایی که به عنوان پروبیوتیک بکار می‌روند باکتری‌های اسید لاکتیک هستند که شامل لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم (*Bifidobacterium*) و استرپتوکوکوس (*Streptococcus*) می‌باشند (Irianto and Austin, 2002).

این بدین دلیل است که باکتری‌های اسید لاکتیک گروه غالب باکتری‌های تشکیل دهنده دستگاه گوارش آبیان و پستانداران را تشکیل می‌دهند (Anderson *et al.*, 1989; Keysami *et al.*, 2005). بنابراین لاکتوباسیلوس می‌تواند همان‌طور که در ماهی و پستان‌داران بکار می‌رود، به عنوان پروبیوتیک در میگوها نیز استفاده شود.

جدول ۱: جیره‌های غذایی مورد استفاده با غلظت‌های مختلف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس**در میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) در سال ۱۳۹۰**

تیمار	تکرار
CF	۳
PF۱	۳
PF۲	۳
PF۳	۳
PF۴	۳
PF۵	۳
مجموع	۱۸

صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با نور لامپ مهتابی در نظر گرفته شد. هر دو هفته یک بار وزن ۱۰ میگوی نمونه‌برداری شده از تانک‌ها اندازه‌گیری شده و درصد بقاء میگوها با جمع آوری تلفات آکواریوم‌ها به طور روزانه برآورد گردید.

یک گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس که در طرح جداگانه‌ای از دستگاه گوارش همین میگو روی محیط کشت اختصاصی لاکتوباسیلوس من روگوزا آگار جداسازی شده و دارای بیش‌ترین خاصیت آنتی‌باکتریال براساس روش انتشار در دیسک (Sugita *et al.*, 2002) برعلیه باکترهای بود که در مرکز آموزش عالی خلیج فارس بوشهر تهیه شده و برای استفاده در این تحقیق در نظر گرفته شد. از لحاظ آزمایش این باکتری گرم مثبت، میله‌ای شکل و کاتالاز مثبت بود.

این گونه به عنوان لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و با استفاده از نرم‌افزار بیولوگ شناسایی گردید (Biolog, Inc, California, USA).

نرم‌افزار بیولوگ یک میکروپلیت حاوی ۳۰۰ آزمایش بیوشیمیایی برای تشخیص باکتری است که بعد از انکوباسیون در حداقل زمان ۴ تا ۱۰ ساعت باکتری را تا گونه شناسایی می‌کند.

هر تیمار ۳ تکرار و ۴۰ میگو آزمایش شده است. میگوهای جوان با غذای تجاری پلت با غلظت‌های مختلف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس خلال به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. میزان غذادهی در مراحل مختلف پرورش ۵-۸ درصد وزن بدن میگوها در نظر گرفته شد (Keysami *et al.*, 2007). میزان غذادهی به‌طور روزانه با توجه به میزان مصرف غذا در تانک‌ها تنظیم گردید.

غذای مورد استفاده به ۳ قسمت تقسیم شده و ۳ بار در روز (در ساعات ۶ صبح به میزان ۴۰ درصد، ۱۲ ظهر به میزان ۲۰ درصد و ۶ غروب به میزان ۴۰ درصد) به میگوهای جوان داده شد (Keysami *et al.*, 2012). غلظت‌های مختلف لاکتوباسیلوس براساس پژوهش‌های قبلی به غذای میگو اضافه گردید (Nikoskelainen *et al.*, 2001; Meunpol *et al.*, 2007; Keysami *et al.*, 2007). بالاترین غلظت در نظر گرفته شده برای این است که معمولاً به نظر می‌رسد که غلظت‌های بالا، اثر بخشی بیش‌تری دارد. از طرف دیگر در هنگام کاربرد غذا در آب بخشی از باکتری‌ها در آب حل شده و از دست می‌روند (Nikoskelainen *et al.*, 2001).

بستر تانک‌ها هر هفته یک بار تمیز شده و هم‌زمان ۵۰-۱۰۰ درصد آب آکواریوم تعویض گردید. در خلال آزمایش آکواریوم‌ها با پمپ آکواریومی به طور یکسان هوادهی شدند. روشنایی به

بررسی اثربخشی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دستگاه گوارش میگوی پافسید غربی ...

فیزیولوژی درون باکتری به عنوان شاهد تهیه گردیدند. این جیره به ترتیب با عناوین PF_۱، PF_۲، PF_۳، PF_۴، PF_۵ و شاهد نام‌گذاری شدند (Keysami et al., 2012).
تهیه جیره به روش خیساندن غذای پلت تجاری میگو در سرم فیزیولوژی حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تازه به مدت ۱ ساعت تا جذب کامل سوسپانسیون باکتری بدست آمد. سپس پلت‌های خیسانده شده در سوسپانسیون لاکتوباسیلوس در آون ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲-۱ ساعت خشک شده، با بسته‌های ۲۰۰ گرمی در پلاستیک بسته‌بندی گردیده و در یخچال نگهداری شدند (Keysami et al., 2012).
بیوشیمیایی جیره‌ها بعد از تهیه شدن به شرح جدول ۲ بدست آمده است. همه داده‌های میانگین ۳ تکرار در هر تیمار هستند.

نمونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به محیط کشت MRS Agar تلقیح شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در شرایط بی‌هوازی در جار شمع بی‌هوازی پرورش داده شد. کلنی‌های جداسازی شده پس از تعیین هویت اولیه با رنگ آمیزی گرم و تست کاتالاز جهت خالص‌سازی و کشت انبوه به محیط مایع MRS مایع منتقل و پرورش داده شد. کشت ۲۴ ساعته باکتری با غلظت ۱۰^{۱۳} سلول در میلی‌لیتر، از انکوباتور برداشته شده و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری گردید. ۵ نوع جیره به عنوان تیمار با خیس کردن غذای پلت در سوسپانسیون لاکتوباسیلوس با نسبت‌های ۱۰^{۱۰}، ۱۰^۹، ۱۰^۸، ۱۰^۷، ۱۰^۶ سلول در گرم، غذای پلت میگو و خیس کردن یک نوع جیره در سرم

جدول ۲: ترکیبات بیوشیمیایی جیره‌های تهیه شده از غلظت‌های مختلف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (میانگین انحراف معیار) در سال ۱۳۹۰

متغیر	CF	PF _۱	PF _۲	PF _۳	PF _۴	PF _۵
پروتئین خام	۳۴/۹۳ ^a ± ۰/۱۵	۳۵/۰۷ ^a ± ۰/۱۲	۳۵/۰۲ ^a ± ۰/۱۲	۳۴/۸۹ ^a ± ۰/۱۷	۳۴/۹۱ ^a ± ۰/۰۵	۳۵/۲۳ ^a ± ۰/۳۶
چربی خام	۶/۷۹ ^a ± ۰/۱۳	۶/۸ ^a ± ۰/۳۱	۶/۹۲ ^a ± ۰/۰۶	۶/۲۸ ^a ± ۰/۵۲	۶/۴۶ ^a ± ۰/۴۶	۶/۶۷ ^a ± ۰/۰۶
فیبر خام	۸/۳ ^a ± ۰/۰۵	۸/۴۲ ^a ± ۰/۱۳	۸/۴۹ ^a ± ۰/۱۴	۸/۲۳ ^a ± ۰/۱۱	۸/۲۵ ^a ± ۰/۱۲	۸/۳۴ ^a ± ۰/۰۸
خاکستر	۱۷/۲۱ ^a ± ۰/۰۸	۱۷/۲ ^a ± ۰/۲۳	۱۷/۲۸ ^a ± ۰/۱۶	۱۷/۳۸ ^a ± ۰/۲۶	۱۷/۳۶ ^a ± ۰/۲۷	۱۷/۳ ^a ± ۰/۱۳
ماده خشک	۳۲/۷۷ ^a ± ۰/۰۷	۳۲/۵۱ ^a ± ۰/۵۹	۳۲/۲۹ ^a ± ۰/۴۳	۳۳/۱۲ ^a ± ۰/۰۹	۳۳/۰۲ ^a ± ۰/۷۲	۳۲/۵۴ ^a ± ۰/۸۶

حروف غیر همسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است (P < ۰/۰۵).

CF: فیبر خام

CP: پروتئین خام (N% × ۶/۲۵)

DM: وزن خشک

رطوبت، پروتئین خام، چربی خام، خاکستر و فیبر خام در جیره شاهد و جیره تیمار و بافت بدن میگو بر اساس استاندارد (AOAC, 1990) در آزمایشگاه اداره کل دامپزشکی استان بوشهر اندازه‌گیری شد. رطوبت با خشک کردن در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴ ساعت اندازه‌گیری، پروتئین با رشد کجلدال بعد از هضم توسط اسید چربی خام در سوکسوله با حل کردن در اتر ۶۰-۴۰ درجه در مدت ۸ ساعت بدست آمد. فیبر خام بعد از چربی‌گیری از نمونه و هضم در اسیدسولفوریک ۱/۲۵ درصد و سود ۱/۲۵ درصد و خاکستر با سوزاندن نمونه در کوره ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت بدست آمد. ماده خشک بر اساس فرمول زیر برآورد گردید.

متغیرهای رشد میگوها با استفاده از فرمول‌های زیر بدست آمد (Felix and Sudharsan, 2004):

$$100 \times \frac{\text{وزن آغازی} - \text{وزن نهایی}}{\text{وزن آغازی}} = \text{درصد افزایش وزن}$$

$$100 \times \frac{\text{مجموع غذای داده شده (گرم)}}{\text{وزن تر (گرم)}} = \text{ضریب تبدیل غذایی}$$

$$\frac{\text{لگاریتم نه‌ری وزن نهایی} - \text{لگاریتم نه‌ری وزن اولیه}}{\text{طول دوره پرورش}} = \text{ضریب رشد ویژه}$$

$$100 \times \frac{\text{تعداد میگوهای باقی مانده در پایان آزمایش}}{\text{تعداد میگوی ذخیره سازی در آغاز آزمایش}} = \text{درصد بقا}$$

آنالیز واریانس یک طرفه و تست دانکن تحلیل گردید (Sokal and Rohlf, 1995). سطح معنی دار بودن در سطح $P < 0.05$ قابل قبول در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS. ver16 انجام گردید.

نتایج

متغیرهای فیزیوشیمیایی مانند درجه حرارت، اکسیژن محلول، pH و آمونیاک به ترتیب در محدوده ۲۶-۳۰ درجه سانتی گراد، ۷/۱-۵/۳ میلی گرم در لیتر، ۸-۹/۵ و ۰/۰۲-۰/۱۱ میلی گرم در لیتر بدست آمد.

نتایج بدست آمده نرمال بوده و در محدوده کیفیت مناسب پرورش میگوی جوان *L.vannamei* است (New et al., 2010). لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تاثیر معنی داری روی کیفیت فیزیوشیمیایی آب پرورش این میگو نداشته است. بین کیفیت آب گروه های تیمار و شاهد بین کیفیت آب تیمارهای مختلف نیز اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($P > 0.05$). ترکیب بیوشیمیایی عضله بدن میگو براساس وزن خشک در جدول ۳ آمده است.

(رطوبت + فیبر خام + خاکستر + چربی خام + پروتئین خام) = ۱۰۰ درصد ماده خشک کیفیت آب به طور روزانه اندازه گیری شد. درجه حرارت و pH به وسیله دستگاه pH متر و درجه حرارت سنج (YSI Yellow (spring inc) اندازه گیری شد. اکسیژن محلول نیز با اکسیژن متر YSI، مدل ۵V (USA) و آمونیاک با استفاده از آمونیاک سنج هانا (HI ۹۳۷۱۵, Taiwan) اندازه گیری گردید.

۲۰۰-۳۰۰ میلی گرم از مدفوع میگوها و یک میگوی زنده هر دو هفته یکبار از نخستین روز غذادهی برای شمارش باکتریایی نمونه برداری گردید. میگوها با قیچی استریل، شکافته شده و روده و هپاتوپانکراس آنها برای شمارش باکتریایی برداشته شد. شمارش باکتریایی با تهیه رقت های سریالی در محلول نرمال سالین (۸/۵ گرم در لیتر نمک طعام) در ۱۰ رقت و سپس در نوترینیت آگار و TSA پخش گردید. بعد از ۲۴ تا ۴۸ ساعت از پرورش کشت باکتریایی در ۳۲ درجه سانتی گراد، پرگنه های رشد یافته شمارش و ثبت گردیدند. باکتری های جداسازی شده با استفاده از تست های بیوشیمیایی همانند رنگ آمیزی گرم، اکسیداز، کاتالاز و نرم افزار بیولوگ مجددا آزمایش شدند (Keysami et al., 2012).

داده های متغیرهای رشد، ترکیبات بیوشیمیایی، کیفیت آب، شمارش باکتریایی بین تکرارها و تیمارها با استفاده از آزمون

جدول ۳: ترکیب بیوشیمیایی عضله بدن میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) براساس وزن خشک (میانگین \pm SD) تغذیه شده با جیره های غذایی با غلظت مختلف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (۱۳۹۰)

متغیر	اولیه	CF	PF۱	PF۲	PF۳	PF۴	PF۵
پروتئین خام	۶۴/۴۸ ^a \pm ۰/۵۴	۶۶/۷۷ ^a \pm ۰/۳۵	۶۸/۳۵ ^a \pm ۰/۴۷	۶۹ ^a \pm ۰/۰۹	۶۸/۶۵ ^a \pm ۰/۴۹	۶۶/۰۸ ^a \pm ۰/۱۹	۶۶/۸۷ ^a \pm ۰/۶۵
چربی خام	۳/۶۵ ^a \pm ۰/۰۸	۴/۲۸ ^a \pm ۰/۲۲	۳/۲۷ ^a \pm ۰/۱۷	۲/۹۶ ^a \pm ۰/۱۲	۳/۲۷ ^a \pm ۰/۰۶	۴/۱۲ ^a \pm ۰/۰۹	۴/۲۶ ^a \pm ۰/۰۶
خاکستر	۱۳/۹۳ ^a \pm ۰/۵۵	۱۴/۵۵ ^a \pm ۰/۴۸	۱۴/۸۱ ^a \pm ۰/۵۱	۱۴/۱۳ ^a \pm ۰/۱۱	۱۴/۲۳ ^a \pm ۰/۲۸	۱۴/۴۳ ^a \pm ۰/۲۹	۱۴/۰۶ ^a \pm ۰/۱۶
ماده خشک	۱۷/۹۳ ^a \pm ۰/۷۸	۱۴/۳۸ ^a \pm ۰/۰۶	۱۳/۵۷ ^a \pm ۰/۶۱	۱۳/۶۳ ^a \pm ۰/۰۴	۱۳/۸۶ ^a \pm ۰/۷۷	۱۵/۳۷ ^a \pm ۰/۲۱	۱۴/۸ ^a \pm ۰/۰۷
رطوبت	۸۱/۹۹ ^a \pm ۰/۱۴	۸۵/۶۰ ^a \pm ۰/۰۹	۸۶/۲۳ ^a \pm ۰/۸۱	۸۵/۴ ^a \pm ۰/۴۴	۸۶/۰۳ ^a \pm ۰/۳۲	۸۴/۶ ^a \pm ۰/۰۷	۸۵/۲۰ ^a \pm ۰/۰۳

حروف غیر همسان در هر ستون نشانه اختلاف معنی دار است ($P < 0.05$)

DM: وزن خشک

CP: پروتئین خام (N% \times ۶/۲۵) NEF: ماده خشک

بررسی اثربخشی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دستگاه گوارش میگوی پاشید غربی ...

پایین‌ترین بوده است. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌دار آماری بین ترکیب بیوشیمیایی جیره‌ها و بافت میگوهای تیمارها و شاهد در خلال ۶۰ روز غذایی وجود نداشت ($P > 0.05$). متغیرهای رشد اندازه‌گیری شده در این تحقیق در جدول ۴ خلاصه شده است.

میزان پروتئین خام در حدود ۳۴/۸۹-۳۵/۲۳ درصد بوده است. همچنین میزان چربی خام در محدوده ۶/۳-۶/۹۲ درصد متغیر بود. بالاترین و پایین‌ترین میزان پروتئین بافت‌ها به ترتیب PF_۲ و PF_۴ درصد و ۶۶/۰۸ درصد بوده است. میزان چربی خام در مورد شاهد ۲/۹۶-۴/۲۸ درصد بالاترین و در تیمار PF_۲

جدول ۴: نتایج شاخص‌های رشد بچه میگوی پاشید غربی جوان (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با غلظت‌های مختلف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (۱۳۹۰)

تیمار	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
(PF _۵)	(CF)	(PF _۱)	(PF _۲)	(PF _۳)	(PF _۴)	(PF _۵)
۱۶۱/۲۳±۱/۲۷ ^a	۱۷۳/۶۴±۳/۹۳ ^a	۱۶۴/۵±۰/۹۵ ^a	۱۶۵/۴±۲/۴۷ ^a	۱۶۷/۴۳±۰/۵۲ ^a	۱۵۷/۶±۱/۶۱ ^a	۱۶۱/۲۳±۱/۲۷ ^a
۵۰/۱۰۷±۲/۵۵ ^a	۴۹۳/۸±۲/۹۱ ^a	۷۳۳/۱±۳/۵۹ ^b	۷۴۶/۵±۲/۵۲ ^b	۷۶۲/۸۷±۲/۹۴ ^b	۶۶۲/۷۳±۱/۹۹ ^c	۵۰/۱۰۷±۲/۵۵ ^a
۳۳۹/۸۳±۳/۴۷ ^a	۳۳۱/۱۷±۷/۳۳ ^a	۵۶۸/۵±۴/۴۵ ^b	۵۸۱/۱±۴/۳۲ ^b	۵۹۵/۴۳±۲/۴۵ ^b	۵۰۵/۱۳±۲/۸۲ ^c	۳۳۹/۸۳±۳/۴۷ ^a
۲۱۰/۸۳±۳/۶۶ ^a	۱۸۵/۳۴±۸/۴۲ ^a	۳۴۵/۵۱±۴/۹۳ ^b	۳۵۱/۵۵±۷/۵۵ ^b	۳۵۵/۶۳±۰/۵۸ ^b	۳۲۰/۶۱±۴/۷۴ ^c	۲۱۰/۸۳±۳/۶۶ ^a
۹۲۷/۳۸±۲/۳۸ ^a	۹۰۷/۷۲±۲/۳۹ ^a	۱۳۰/۸۰±۰/۱۹ ^b	۱۳۳۴/۸۲±۲/۷۹ ^b	۱۴۴۸/۹۶±۲/۱۵ ^b	۱۱۳۲/۲۲±۱/۹۵ ^c	۹۲۷/۳۸±۲/۳۸ ^a
۲/۶۷±۰/۰۲ ^a	۲/۸۸±۰/۰۵ ^a	۲/۳۰±۰/۰۱ ^b	۲/۲۹±۰/۰۲ ^b	۲/۴۳±۰/۰۰۶ ^b	۲/۲۴±۰/۰۱ ^b	۲/۶۷±۰/۰۲ ^a
۱/۰۷±۰/۰۱ ^a	۰/۹۹±۰/۰۲ ^a	۱/۲۴±۰/۰۰۹ ^b	۱/۲۵±۰/۰۰۹ ^b	۱/۱۷±۰/۰۰۳ ^b	۱/۲۸±۰/۰۰۹ ^b	۱/۰۷±۰/۰۱ ^a
۱/۸۸±۰/۰۳ ^a	۱/۷۴±۰/۰۴۷ ^a	۲/۵±۰/۰۱۷ ^b	۲/۵۱±۰/۰۳ ^b	۲/۵۲±۰/۰۰۳ ^b	۲/۳۸±۰/۰۲ ^c	۱/۸۸±۰/۰۳ ^a
۸۳/۸۱±۰/۱۶ ^a	۷۸/۱۲±۰/۹۷ ^a	۸۴/۱۹±۱/۱۹ ^b	۸۴/۹±۰/۹۱ ^b	۸۵/۰۹±۰/۹۹ ^b	۸۴/۶۵±۱/۹۵ ^a	۸۳/۸۱±۰/۱۶ ^a

حروف غیر همسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

طور کلی رشد و ضریب تبدیل غذایی میگوهای جوان در همه جیره‌های حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، داشتند از جیره شاهد بالاتر بود. پس از ۶۰ روز غذایی میانگین افزایش وزن تیمارهای حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس داشتند، ۷۲۶/۳ میلی‌گرم بدست آمد. اختلاف معنی‌داری بین تیمار PF_۲ با PF_۵ بود ($P < 0.05$) و میانگین درصد بقاء تیمارها (۸۵/۷۳ درصد) به طور معنی‌داری از درصد بقاء در شاهد (۷۸/۱۲±۰/۹۷ درصد) بالاتر بود. بنابراین اضافه کردن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به جیره میگوها باعث افزایش رشد و درصد بقاء میگوهای جوان وانامی گردید. باکتری‌های دستگاه گوارش و مدفوع میگوها بعد از غذایی با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در خلال ۶۰ روز بر اساس تست‌های بیوشیمیایی و مورفولوژیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس شناسایی گردید. شمارش باکتری‌های دستگاه گوارش و مدفوع میگوها در جداول ذیل ارائه شده است (جداول ۵ و ۶).

از میان ۵ سطح مختلف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در جیره‌های ۱۰^{۱۰}، ۱۰^۹، ۱۰^۸ به‌طور معنی‌داری متغیرهای رشد را بهبود بخشیدند. میگوهای جیره PF_۳ میانگین افزایش وزن بالاتری در حدود ۵۹۳/۴۵ (۱۷۰/۲۹) درصد نسبت به کنترل رشد را نشان دادند. میانگین افزایش وزن میگوها وقتی که سطح درجیره از ۱۰^۸ به سمت پایین‌تر و به طرف بالاتر تمایل شد، کاهش داشت. مشابه چنین کاهش در مورد ضریب رشد ویژه نیز اتفاق افتاد. در مورد متغیرهای ضریب رشد ویژه، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و همچنین بین تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت ($P < 0.05$).

میانگین جذب غذا در میگوهایی که از سطح ۱۰^۸ لاکتوباسیلوس استفاده کردند، بالاتر بود (۱۴۴۸/۹۶±۲/۱۵). میگوهای مربوط به جیره شاهد، پایین‌ترین سطح جذب غذا را نسبت به بقیه تیمارها نشان دادند. بالاترین ضریب تبدیل غذایی (۲/۲۴±۰/۰۱) در ۱۰^۷ لاکتوباسیلوس در غذا و پایین‌ترین آن در جیره مشاهده گردید. به

جدول ۵: لگاریتم تعداد باکتری‌های شمارش شده از دستگاه گوارش میگوهای پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با غلظت‌های مختلف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (۱۳۹۰)

شاخص	زمان (هفته)	CF	PF۱	PF۲	PF۳	PF۴	PF۵
لگاریتم شمارش باکتری‌های کل (CFU/g)	۰	۲/۶	۲/۶	۲/۶	۲/۶	۲/۶	۲/۶
	۲	۳/۹	۵/۷	۵/۷	۵/۷	۴/۳	۴/۸
	۴	۴/۷	۵/۹	۵/۹	۵/۹	۵/۶	۵/۵
	۶	۵/۳	۶/۳	۶/۳	۶/۳	۵/۹	۶/۱
	۸	۷/۸ ^a	۷/۸ ^a	۷/۸ ^a	۷/۸ ^a	۷/۸ ^a	۷/۸ ^a
لگاریتم باسیلوس شمارش شده (CFU/g)	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱
	۲	۱	۲/۸	۲/۸	۲/۸	۲/۶	۲/۶
	۴	۱	۴/۶	۴/۶	۴/۶	۳/۵	۳/۵
	۶	۱	۶/۱	۶/۱	۶/۱	۴/۹	۴/۹
	۸	۱ ^b	۷/۴ ^a	۷/۴ ^a	۷/۴ ^a	۵/۹ ^b	۵/۳ ^b
لگاریتم باکتری‌های گرم منفی شمارش شده (CFU/g)	۰	۲/۶	۲/۶	۲/۶	۲/۶	۲/۶	۲/۶
	۲	۳/۴	۲/۰۱	۲/۰۱	۲/۰۱	۲/۰۱	۲/۰۱
	۴	۴/۳	۲/۰۱	۲/۰۲	۲/۰۲	۲/۰۲	۲/۰۲
	۶	۴/۹	۲/۰۱	۲/۰۳	۲/۰۳	۲/۰۳	۲/۰۳
	۸	۵/۹ ^b	۲/۰۱ ^a	۲/۰۳ ^a	۲/۰۳ ^a	۲/۰۵ ^a	۳/۹ ^b

حروف غیر همسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

جدول ۶: لگاریتم تعداد باکتری‌های شمارش شده از مدفوع میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با غلظت‌های مختلف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (۱۳۹۰)

شاخص	زمان (هفته)	CF	PF۱	PF۲	PF۳	PF۴	PF۵
لگاریتم شمارش باکتری‌های کل (CFU/g)	۰	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵
	۲	۳/۹	۳/۹	۳/۹	۳/۹	۳/۶	۳/۹
	۴	۴/۳	۴/۳	۴/۳	۴/۳	۴/۱	۴/۶
	۶	۵/۳	۵/۳	۵/۳	۵/۳	۴/۹	۵/۱
	۸	۵/۹ ^a	۶ ^a	۵/۹ ^a	۵/۹ ^a	۵/۹ ^a	۵/۹ ^a
لگاریتم لاکتوباسیلوس شمارش شده (CFU/g)	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱
	۲	۱	۲/۳	۲/۳	۲/۳	۲/۳	۲/۳
	۰	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۳/۶	۳/۶
	۲	۳/۹	۳/۹	۳/۹	۳/۹	۴/۰۵ ^c	۴/۰۵ ^c
	۴	۴/۳	۴/۳	۴/۳	۴/۳	۲/۴	۲/۴
لگاریتم باکتری‌های گرم منفی شمارش شده (CFU/g)	۶	۵/۳	۵/۳	۵/۳	۵/۳	۲/۴	۲/۴
	۸	۶ ^a	۵/۹ ^a	۵/۹ ^a	۵/۹ ^a	۲/۴	۲/۴
	۰	۱	۱	۱	۱	۵/۰۴ ^d	۵/۰۴ ^d
	۲	۲/۳	۲/۳	۲/۳	۲/۳	۲/۴۵	۲/۴۵

حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

دستگاه گوارش آبی باعث افزایش رشد می‌گردد (Abraham, 2008).

تاثیر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در افزایش وزن و درصد بقاء از راه تغذیه است، بدین ترتیب که این باکتری‌ها ترکیبات سمی و غیر تغذیه‌ای جیره را هضم می‌کرده، سپس میزبان می‌تواند تمام غذا را جذب کند (Balcazar, et al., 2004; Gullian et al., 2004). لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس انواع مختلفی از پروتئاز و سایر انواع آنزیم‌ها را تولید کرده که می‌تواند انواع مواد آلی و مواد غذایی را تجزیه نموده و به مواد مغذی قابل جذب تبدیل کند. از طرف دیگر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با تولید مواد آنتی‌باکتریال و رقابت در جذب املاح غذایی و حتی با ازدیاد و تجمع باکتری‌های پاتوژن در دستگاه گوارش میگو جلوگیری می‌کند (Wang et al., 2000). در این بررسی جیره با سطح 10^8 سلول در میلی‌لیتر لاکتوباسیلوس به طور معنی‌داری از سایر سطوح لاکتوباسیلوس و شاهد اثر بخش‌تر بود. اثربخشی پروبیوتیک در سطح 10^8 توسط مطالعات متعددی تأیید گردید (Nikoskelainen et al., 2001; Meunpol et al., 2000; keysami et al., 2003).

رشد کند در سطح بالاتر لاکتوباسیلوس جیره PF_4 و PF_5 در تحقیق Nikoskelainen و همکاران (۲۰۰۱) تأیید گردیده بود، زمانی که اثر بخشی پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس با افزایش غلظت لاکتوباسیلوس، کاهش یافت. در این‌که چرا غلظت پایین‌تر باکتری اثربخشی، بالاتری دارد هنوز مشخص نیست و نیاز به مطالعات بیشتر دارد، اما رشد کم‌تر در غلظت بالاتر می‌تواند به جنبه‌های محیطی زیستی آبی مربوط باشد، زیرا افزایش غلظت باکتری در آب استرس‌زا بوده و میزان تغذیه میگو را کاهش می‌دهد. این بررسی نشان داد که غلظت پروبیوتیک به منظور جلوگیری از مصرف میزان بالا و در نتیجه کاهش اثر بخشی و افزایش هزینه تولید باید با دقت بکار برود (Nikoskelainen et al., 2001).

نتایج شمارش باکتری‌ها در دستگاه گوارش و مدفوع میگوها اختلاف معنی‌داری را بین باکتری‌های تیمارها و شاهد نشان داد ($P < 0.05$). تراکم باکتری‌های گرم منفی در گروه شاهد از گروه‌های تیمار بالاتر بود، این شاید بدین دلیل باشد که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به مقدار زیادی مواد آنتی‌باکتریال و

میانگین کل باکتری‌های دستگاه گوارش میگوها $6/3 \pm 2/6 \times 10^7$ سلول در میلی‌لیتر بدست آمد. تراکم لاکتوباسیلوس در تانک‌های تیمار به $2/5 \pm 2/0 \times 10^7$ افزایش یافت. تراکم لاکتوباسیلوس در گروه شاهد افزایش نداشت. تراکم باکتری‌های گرم منفی در گروه‌های تیمار در خلال ۶۰ روز غذاهای $1/1 \pm 0/33 \times 10^2$ سلول در میلی‌لیتر کاهش یافت، ولی میانگین تراکم باکتری‌های گرم منفی در تانک‌های شاهد $4 \pm 1/0 \times 10^5$ سلول در میلی‌لیتر افزایش نشان داد.

بحث و نتیجه گیری

کیفیت آب پرورش لاروها در این تحقیق پس از استفاده از لاکتوباسیلوس نیز تغییرات معنی‌دار آماری در تیمارهای مختلف از خود نشان نداد. نتایج مشابه این تحقیق توسط محققین نیز بدست آمده است (Aly et al., 2008). معنی‌دار نبودن تغییرات کیفی آب پرورش میگوهای جوان در تیمارهای مختلف شاید به زمان کم دوره پرورش مربوط باشد (Keysami et al., 2012). آنالیز نتایج ترکیب بیوشیمیایی میگوها پس از استفاده از لاکتوباسیلوس تغییرات معنی‌داری را نشان نداد. نتایج تحقیقات Aly و همکاران (۲۰۰۸) و Keysami و همکاران (۲۰۱۲) نیز تغییرات معنی‌داری را در ترکیب بیوشیمیایی آبی هدف ایجاد نکرده بود. دلیل عدم تاثیر استفاده از لاکتوباسیلوس در تغییر ترکیب بیوشیمیایی آبی هدف می‌تواند غلظت کم باکتری مورد استفاده و عدم تغییر معنی‌دار ترکیب بیوشیمیایی جیره‌های تیمار و کنترل مربوط باشد (Keysami et al., 2012).

خاصیت پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس از افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی مناسب‌تری که در تیمارها نسبت به شاهد داشت، به اثبات می‌رسد. نتایج ۶۰ روز غذاهای با غذای حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس اختلاف معنی‌دار آماری را در افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، جذب غذا و ضریب تبدیل غذایی بین تیمارها و شاهد نشان داد. نتایج مشابه این تحقیق در بهبود رشد میگو در اثر استفاده از لاکتوباسیلوس توسط Balcazar و همکاران (۲۰۰۴) گزارش گردیده بود. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با حذف باکتری‌های گرم منفی و جاگیری در دستگاه گوارش و از طریق فعالیت آنزیمی و تولید املاح غذایی در

لاکتوباسیلوس دار، رشد و درصد بقای میگوی جوان سفید غربی را بهبود بخشید.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله، مراتب قدردانی خود را از پرسنل آزمایشگاه و کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان مرکز آموزش جهاد کشاورزی بوشهر ابراز می‌دارند.

منابع

- Abraham, T. J., 2008.** Antagonistic fish gut bacterium *Lactobacillus* sp. as bio control agent in ornamental fish culture. *Journal of fish technology*, 45 (2).
- Aly, S. M., Ahmed, Y. A., Ghareeb, A. A. and Mohamed, M. F., 2008.** Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus* as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish shellfish immunol*, 25:128-136.
- Anderson, I. G., Shamsudin, M. N. and Nash, G., 1989.** A preliminary study on the aerobic heterotrophic bacterial flora in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, hatcheries in Malaysia. *Aquaculture*, 81:213-223.
- AOAC, 1990.** Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th edn, AOAC, Arlington, VA, USA.
- Balcazar, J. L., de Blas, I., Ruiz- Zarzuela, I., Vendrell, D. and Muzquiz, J. L., 2004** Probiotics: a tool for the future of fish and shellfish health management. *J Aquacult, Trop*, 19: 239-242.
- FAO/WHO, 2001.** Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina.
- FAO, 2007.** The state of World Fisheries and Aquaculture 1998. Food and Agriculture Organization FAO, Rome, 112 P.
- Felix, N. and Sudharsan, M., 2004.** Effect of glycine betaine, a feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquacult, Nutr*, 10:193-197.
- Gullian, M. and Rodriguez, J., 2002.** Selection of probiotic bacteria and study of their

ترکیبات آنتی‌بیوتیکی در محیط پرورش خود رها سازی می‌کند (Sugita et al., 2002; Gullian et al., 2004). لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند دیفی سی‌دین (Difficidin) و اکسی دیفی سی‌دین (Oxydifficidin) تولید می‌کند که می‌تواند طیف وسیعی از باکترهای هوازی و بی‌هوازی را از بین ببرد (Gullian and Rodriguez, 2002). همچنین بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های معمول مانند باکتریوسین را تولید می‌کند (Sugita et al., 2002).

بنابراین به نظر می‌رسد که باکتری‌های گرم منفی در تیمارها به‌وسیله باکتری‌های لاکتوباسیلوس کشته شده و با لاکتوباسیلوس‌ها جایگزین شده باشد (Gullian and Rodriguez, 2002).

افزایش تراکم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دستگاه گوارش و مدفوع میگوهای تیمار در این تحقیق می‌تواند نشان‌دهنده تجمع و جاگیری لاکتوباسیلوس‌ها در دستگاه گوارش میگو باشد. به نظر می‌رسد باکتری‌های که بتوانند در دستگاه گوارش غالب شده و تجمع یابند، شاید گزینه خوبی برای حذف باکتری‌های بیماری‌زا از دستگاه گوارش آبزی و شروع فعالیت پروبیوتیکی باشند (FAO /WHO , 2004).

باکتری‌هایی که به صورت زنده مصرف شده و در دستگاه گوارش زنده بمانند، وقتی به میزان کافی و غلظت موثر مصرف شوند دارای خواص پروبیوتیکی هستند (Verschuere et al., 2000). بنابراین باکتری استفاده شده در این تحقیق (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) دارای خواص مفید تغذیه‌ای و بهداشتی در افزایش کنترل رشد و عوامل بیماری‌زای دستگاه گوارش میگوی سفید غربی دارد، بنابراین می‌تواند در پرورش این گونه، مورد استفاده قرار گیرد.

بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق، گونه باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس جدا شده از دستگاه گوارش این میگو می‌تواند به عنوان پروبیوتیک در میگوی جوان سفید غربی بکار رود. بدین ترتیب می‌توان این باکتری‌ها را با غلظت 10^8 سلول در گرم، به غذای میگوی سفید غربی با استفاده از روش خیساندن غذای پلت میگو در محلول سوسپانسیون باکتری وارد نموده و پس از ۲۰ دقیقه بکار برد. در نتیجه با استفاده از غذای

- Rumsey, G. L., Hughes, S. G. and Kinsella, J. L., 2007.** Use of dietary yeast *Saccaromyces cerevisiae* nitrogen by Lake Trout. *J of the World Aquaculture Society*, 21 (3): 205-209.
- Salinas, I., Cuesta, A., Estteban, M. A. and Meseguer, J., 2005.** Dietary administration of *Lactobacillus delbrueckii* and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead sea bream cellular innate immune responses. *Fish Shellfish Immunol*, 19: 67-77.
- Scan, 2003.** Opinion of the scientific committee on animal nutrition on the criteria for assessing the safety of microorganisms resistant to antibiotics of human clinical and veterinary importance. European Commission Health and Consumer Protection Directorate-General.
- Sokal, R. R. and Rohlf, F. J., 1995** Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. Freeman, New York.
- Sotomayure, M. A. and Balcazar, J. L., 2003.** Inhibition of shrimp pathogenic Vibrios by mixture of probiotic strain. *Rev Aquat*, 19:9-15.
- Sugita, H., Okamo, R., Suzuki, Y., Iwai, D., Mizukami, M., Akiyama, N. and Matsuura, S., 2002.** Antibacterial abilities of intestinal bacteria from larval and juvenile Japanese flounder against fish pathogens. *Fish, Sci*, 68:1004-1011.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Huys, G., Dhont, J., Sorgeloos, P. and Verstraete, W., 2000.** Probiotic Bacteria as Biological control agents in Aquaculture, Review. *Microbiology and molecular biology*, 64: 655-671.
- Wang, X., Li, H., Zhang, X., Li, Y., Ji, W. and Xu, H., 2000.** Microbial flora in the digestive tract of adult penaeid shrimp (*Penaeus chinensis*). *J Ocean Univ Qingdao*, 30:493-498.
- immunostimulatory qualities of probiotic bacteria. *Global Aquacult, Advocate*, 5:52-54.
- Gullian, M., Thompson, F. and Rodriguez, J., 2004.** Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 233: 1-14.
- Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Probiotics in Aquaculture. *J Fish Dis*, 25: 633- 642.
- Keysami, M. A., Saad, C. R., Daud, H. M., Sijam, K. and Alimon, A. R., 2005.** A Preliminary Study to isolation and identification of the Aerobic Putative Bacterial Flora in Juvenile Giant Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Kustem 4th Annual Seminar held at Primula Beach Resort, Kuala Terengganu, Malaysia during May, 2 – 3, 2005. Abstract book, 78 P.
- Keysami, M. A., Saad, C. R., Daud, H. M., Sijam, K. and Alimon, A. R., 2007.** Effect of *Bacillus subtilis* on growth development and survival of larva *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquacult, Nutr*, 13:131-136.
- Keysami, M. A., Mohammadpour, M. and Saad, C. R., 2012.** Probiotic activity of *Bacillus subtilis* in juvenile fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) at different methods of administration to the feed. *Journal of Aquaculture International*, 20(3): 499-511.
- Meunpol, O., Lopinyosiri, K. and Menasveta, P., 2003.** The effects of ozone and probiotics on the survival of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 220:437-448.
- New, M. B., Valenti, W. C., Tidwell, J. H., D'Abramo, L. R. and Kutty, M. N., 2010.** Freshwater prawns biology and farming. Blackwell science, Oxford, 550 P.
- Nikoskelainen, S., Ouwehand, A, Salminen, S. and Bylund, G., 2001.** Protection of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*. *Aquaculture*, 198:229–236.

A Study On Effectiveness Of *Lactobacillus acidophilus* On Survival And Growth of *Litopenaeus vannamei* in In-vitro

Abstract

A feeding experiment was conducted to investigate the effect of *L.acidophilus* bacterium and its suitable level on survival and growth rate of juvenile *Litopenaeus vannamei* during on 22 November 2010 to 23 September 2011. A *L.acidophilus* bacterium isolated from shrimp intestine was added to commercial shrimp feed as a probiotic. Six diets were prepared by soaking shrimp feed in to the *L. acidophilus* to achieve 10^{10} , 10^9 , 10^8 , 10^7 and 10^6 levels with a non-treated control. After 60 days, the shrimp fed diet at level 10^8 , showed a higher mean weight gain (593.45 g) or 170.29% increase in growth over control. The mean weight gain showed a decreasing trend as the *L. acidophilus* level decreased from 10^8 to 10^6 and the *L.acidophilus* level increased from 10^8 to 10^{10} in the diets. There were significant differences ($P<0.05$) in weight gain, feed intake, daily growth and feed conversion ratio (FCR) among treated and control groups. There were significant differences ($P<0.05$) among treatments and control in survival rate but no significant differences ($P>0.05$) in water quality and biochemical composition among treated and control groups. Clearly, treated with *L.acidophilus* appeared to enhance growth and survival of *Litopenaeus vannamei*. It was concluded that the tested strain may be a promising probiotics for *Litopenaeus vannamei* at a level of 10^8 *L. acidophilus* in to the prawn feed.

Key Words: *L. acidophilus*, *Litopenaeus vannamei*, level of probiotic, survival shrimp and grow