

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گیلان

دانشکده شیلات و محیط زیست

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته  
تکثیر و پرورش آبزیان

**ارزیابی عملکرد رشد و بقای لارو میگوی وانامی (*Litopenaeus*  
*vannamei*) با استفاده از سطوح مختلف پروبیو آنزیم در جیره غذایی**

پژوهش و نگارش:

محمد حسین پور

استاد راهنما:

دکتر ولی اله جعفری

اساتید مشاور:

دکتر عبدالمجید حاجی مرادلو

مهندس عباسعلی زنده بودی

تابستان ۱۳۹۳

## تعهدنامه

نظر به اینکه انجام فعالیت‌های پایان‌نامه‌های تحصیلی با بهره‌گیری از حمایت‌های علمی، مالی و پشتیبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت می‌پذیرد، به منظور رعایت حقوق دانشگاه، نسبت به رعایت موارد زیر متعهد می‌شوم:

۱. این گزارش حاصل فعالیت‌های علمی- پژوهشی و دانش و آگاهی نگارنده است مگر آنکه در متن به نویسنده یا پدید آورنده اثر ارجاع داده شده باشد.

۲. چاپ هر تعداد نسخه از پایان‌نامه با کسب اجازه کتبی از مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه خواهد بود.

۳. انتشار نتایج پایان‌نامه به هر شکل (از قبیل کتاب، مقاله و همایش) با اطلاع و کسب اجازه کتبی از استاد راهنما خواهد بود. نام کامل دانشگاه:

به فارسی: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

و به انگلیسی: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

در بخش آدرس‌دهی درج خواهد شد.

۴. در انتشار نتایج پایان‌نامه در قالب اختراع، اکتشاف و موارد مشابه، نام کامل دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به عنوان عضو حقوقی در انتهای فهرست اسامی درج گردد.

۵. تعیین ترتیب اسامی نویسندگان در انتشار نتایج مستخرج از پایان‌نامه و هر گونه تفاوت احتمالی در آن با فهرست مصوب اسامی هیات راهبری پایان‌نامه با تایید استاد راهنمای اول خواهد بود.

نام و نام خانوادگی

محمد حسین پور

تابستان ۱۳۹۳

## تقدیم:

تقدیم به پروردگار بزرگوارم، خدایی که هر چه دارم از اوست و هر چه ندارم از خویشتن خویش است.

تقدیم به پدر و مادر عزیزم که در راه پیشرفت من در مسیر علم و زندگی همه نوع کجک و فداکاری را برایم انجام دادند.

و در نهایت تقدیم به همسر عزیزم سرکار خانم شیما بزرگی به پاس قدر دانی از قلبی آکنده از عشق و معرفتش که وجود پاک و مهربانش سرشار از سلامت و امنیت و آرامش من است.

محمد حسین پور

## تشکر و قدردانی

سپاس فراوان مخصوص **پروردگار بزرگوام** که من را یاری کرد تا این پایان‌نامه را با موفقیت و با افقی جدید به دنیای دانش به پایان برسانم. به مصداق «من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق» بسی شایسته است از استاد ارجمند و فرزانه جناب آقای دکتر ولی اله جعفری به‌عنوان استاد راهنما که همواره نگارنده را موردحمایت علمی و محبت خود قرار داده‌اند، و از استاد مشاوران محترم جناب آقای دکتر عبدالمجید حاجی مرادلو و جناب آقای مهندس عباسعلی زنده بودی به خاطر حمایت‌های باارزش علمی و پژوهشی خود در طی این پروژه تحقیقاتی تقدیر و تشکر نمایم.

همچنین از کارکنان محترم پژوهشکده میگوی کشور و همچنین کارکنان زحمت‌کش مرکز تحقیقات بندرگاه در استان بوشهر که همه امکانات پژوهشی، علمی و آزمایشگاهی خود را جهت پیشبرد پروژه در اختیار این‌جانب قرار دادند کمال تقدیر و تشکر را دارم.

در ادامه از جناب آقای دکتر بابک قائدنیا و همسر محترمشان سرکار خانم مریم میربخش و همچنین مهندس یگانه مسئولین محترم بخش بیماری‌های آبزیان از پژوهشکده میگوی کشور به خاطر کمک‌های بی‌دریغ و شرافتمندانه‌شان کمال ارادت و قدردانی را دارم.

و در انتها از پروردگار پاک و بزرگوام به خاطر همه محبت‌هایی که در حق این بنده حقیر و ناچیز دارد و از پدر و مادر مهربان و زحمت‌کشیده‌ام که من را تا به این مرحله رسانیده‌اند تشکر و قدردانی می‌کنم.

## چکیده

طی ۶۰ روز آزمایش تأثیر پروبیوآنزیم بر فاکتورهای رشد و بقاء، ترکیب لاشه و مقاومت در برابر استرس شوری در پست لارو میگوی وانامی مورد بررسی قرار گرفت. باتوجه به اهمیت استفاده از باکتری‌های پروبیوتیکی و آنزیم‌های هضمی در افزایش کارایی تغذیه و بهبود نرخ رشد این آزمایش با هدف بررسی تأثیر استفاده هم‌زمان باکتری‌های پروبیوتیکی با آنزیم‌های هضمی بر شاخص‌های رشد و بقاء و ترکیب لاشه در پست لارو میگوی وانامی انجام گرفت. پروبیوآنزیم شامل شش نوع از آنزیم-های هضمی  $\beta$ -، 2.1.4-3.2.1.6 (protease, cellulase,  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -glucanase, xylanase 3.2.1.8) و چهار نوع از باکتری‌های پروبیوتیکی (*b.subtilis*, *b.licheniformis*, *enterococcus faecium*, *lactobacillus acidophilus*) به جیره غذایی پایه با سه غلظت مختلف (تیمار ۱: ۱/۰ g/kg، تیمار ۲: ۰/۵ g/kg و تیمار ۳: ۰/۲۵ g/kg) اضافه شد. تعداد ۷۰ قطعه پست لارو با میانگین وزن اولیه ۴۳ میلی‌گرم به‌طور تصادفی در ۱۲ آکواریوم شامل سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد. در پایان دوره میگوهای تیمار ۲ دارای بیشترین میانگین رشد و بقاء و بهترین عملکرد را در ترکیب لاشه نسبت به سایر تیمارها و گروه شاهد بودند و تفاوت معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) نسبت به سایر گروه‌ها داشتند. نتایج حاصل از آزمون شوری (۰ppt، ۴۰ppt و ۶۰ppt) نشان داد که بیشترین مقاومت در برابر شوری ۶۰ppt را تیمار ۲ و بیشترین مقاومت را در برابر آب شیرین را تیمار ۲ و تیمار ۳ داشته و تفاوت معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) در نرخ بقاء با گروه شاهد داشتند. همچنین تلفاتی در آزمون شوری ۴۰ppt در هیچ‌یک از گروه‌ها مشاهده نشد. نتایج این آزمایش نشان داد غلظت‌های مشخصی از پروبیوتیک و آنزیم تأثیر مثبت بر عملکرد رشد و بقاء، محتوی ترکیب لاشه و مقاومت در برابر تنش شوری در پست لارو میگوی وانامی دارد. هرچند غلظت‌های بالا اثر منفی بر رشد و برخی از فاکتورهای ترکیب لاشه و غلظت‌های پایین تأثیر کمی بر رشد داشتند.

**کلمات کلیدی:** پروبیوآنزیم، پست لارو میگوی وانامی، ترکیب لاشه، نرخ بقاء، استرس شوری.

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

### فصل اول

۲	۱- مقدمه و کلیات.....
۲	۱-۱- مقدمه.....
۳	۲-۱- کلیات.....
۳	۱-۲-۱- آنزیم ها.....
۴	۲-۲-۱- پروبیوتیک ها.....
۶	۳-۲-۱- انواع پروبیوتیک ها و روش های استفاده از آنها در جیره آبزیان.....
۶	۴-۲-۱- فرضیه ها.....
۷	۵-۲-۱- هدف تحقیق.....

### فصل دوم

۱۰	۱-۲- سوابق تحقیق.....
۱۰	۱-۱-۲- مطالعات انجام گرفته در داخل کشور.....
۱۲	۲-۱-۲- مطالعات انجام گرفته در خارج از کشور.....
۱۵	۳-۱-۲- جمع بندی کلی سابقه تحقیق.....

### فصل سوم

۱۸	۳- مواد و روش ها.....
۱۸	۱-۳- مواد مصرفی.....
۱۸	۱-۱-۳- غذای تجاری.....
۱۸	۲-۱-۳- پروبیوآنزیم.....
۱۹	۳-۱-۳- نمک دریا.....

۱۹	۲-۳- مواد غیر مصرفی.....
۲۰	۳-۳- روش کار.....
۲۰	۱-۳-۳- تکنیک پرورش میگو و وضعیت طراحی آزمایش.....
۲۰	۱-۱-۳-۳- تهیه و انتقال پست لارو.....
۲۰	۲-۱-۳-۳- روش آماده سازی پست لاروها برای انجام آزمایش.....
۲۱	۳-۱-۳-۳- زیست سنجی میگوها.....
۲۱	۲-۳-۳- روش تهیه جیره‌های آزمایشی.....
۲۱	۳-۳-۳- اندازه‌گیری فاکتورهای کیفی آب.....
۲۲	۴-۳-۳- شاخص‌های رشد.....
۲۲	۱-۴-۳-۳- نرخ رشد ویژه (SGR).....
۲۲	۲-۴-۳-۳- فاکتور وضعیت (FCR).....
۲۲	۳-۴-۳-۳- افزایش وزن (WG).....
۲۲	۵-۳-۳- تجزیه شیمیایی لاشه.....
۲۳	۱-۵-۳-۳- اندازه‌گیری پروتئین خام لاشه.....
۲۳	۲-۵-۳-۳- اندازه‌گیری چربی خام لاشه.....
۲۳	۳-۵-۳-۳- اندازه‌گیری خاکستر لاشه.....
۲۳	۴-۵-۳-۳- اندازه‌گیری رطوبت لاشه.....
۲۴	۶-۳-۳- مقاومت در برابر عوامل تنش‌زای محیطی.....
۲۴	۱-۶-۳-۳- آزمون شوری.....
۲۴	۷-۳-۳- تجزیه و تحلیل آماری.....

## فصل چهارم

۲۶	۴- نتایج.....
۲۶	۱-۴- شاخص‌های رشد.....
۲۶	۲-۴- تأثیر پروبیوآنزیم برنرخ بقاء در پست لارو میگوی وانامی.....
۲۷	۳-۴- تجزیه شیمیایی لاشه.....



۲۸	.....	۴-۴- مقاومت در برابر عوامل تنش زا (تست شوری)
۲۸	.....	۴-۴-۱- تست آب شور
۲۹	.....	۴-۴-۲- تست آب شیرین

### فصل پنجم

۳۲	.....	۵- بحث و نتیجه گیری
۳۲	.....	۵-۱- بحث
۳۲	.....	۵-۱-۱- شاخص های رشد
۳۴	.....	۵-۱-۲- ترکیب لاشه
۳۵	.....	۵-۱-۳- آزمون استرس شوری
۳۶	.....	۵-۲- نتیجه گیری
۳۶	.....	۵-۳- پیشنهادات
۳۶	.....	۵-۳-۱- اجرایی
۳۶	.....	۵-۳-۲- پژوهشی

### منابع

۳۷	.....	فهرست منابع
----	-------	-------------

---

## فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۳ آنالیز تقریبی جیره آزمایشی (%).	۱۸
جدول ۲-۳ ترکیبات تشکیل دهنده پروبیوآنزیم (به ازای یک گرم).	۱۹
جدول ۱-۴ عملکرد رشد و بقاء در پست لارو میگوی وانامی ( <i>L. vannamei</i> ) تغذیه شده با سطوح مختلف از پروبیوآنزیم و جیره پایه	۲۷
جدول ۲-۴ آنالیز تقریبی لاشه (بر اساس درصد وزن تر) در پست لارو میگوی وانامی ( <i>L. vannamei</i> ) تغذیه شده با سطوح متفاوت پروبیوآنزیم.	۲۸
شکل ۱-۴ درصد تلفات پست لاروهای میگوی وانامی طی ۲۸ ساعت مواجهه با آب با شوری ppt ۶۰. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار ( $P < 0/05$ ) بین گروه‌های آزمایشی است...	۲۹
شکل ۲-۴ درصد تلفات پست لاروهای میگوی وانامی طی ۱۵ ساعت مواجهه با آب شیرین (ppt ۰). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار ( $P < 0/05$ ) بین گروه‌های آزمایشی است...	۳۰

فصل اول

مقدمه و کلیات

## ۱- مقدمه و کلیات

### ۱-۱- مقدمه

میگوها یکی از مهم‌ترین غذاهای دریایی هستند که در سرتاسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرند. میگوها در رده سخت‌پوستان (*Crustaceae*) و راسته (*Decapoda*) قرار دارند که از جنس‌های مختلفی تشکیل شده‌اند. در میان جنس‌های مختلف ده‌پایان، میگو از فراوانی گونه‌ای نسبتاً خوبی برخوردار است. از لحاظ ارزش غذایی گوشت میگو حاوی مقادیر بالایی از پروتئین، ویتامین B12، فسفر و سلنیوم و سایر عناصر مغذی می‌باشد. از آنجایی که کمبود سلنیوم در بدن انسان یک عامل اصلی در نارسایی‌های قلبی و سایر اشکال بیماری‌های قلبی می‌باشد، میگو با داشتن مقادیر بالایی از سلنیوم با قابلیت جذب مناسب می‌تواند از این‌گونه بیماری‌ها جلوگیری کند (باگل<sup>۱</sup> و همکاران ۲۰۰۱). همچنین میگوها نسبت به سایر غذاهایی که پروتئین زیادی دارند نظیر گوشت ماهی و گروه ماکیان، دارای کالری کم‌تری هستند. پروتئین موجود در میگو کیفیت بالایی داشته و حاوی تمام اسیدآمین‌های لازم جهت رشد می‌باشد. میگوها دارای مقادیر کمی چربی در عضله و دارای اسیدهای چرب امگا-۳ بالایی می‌باشند، که این دسته از اسیدهای چرب غیراشباع نقش مؤثری در کاهش ابتلا به سکت قلبی در انسان دارند. در سال‌های اخیر با افزایش تقاضا نسبت به مصرف آبزیان، جهت به حداکثر رساندن تولید آبزیان در سیستم‌های پرورشی از پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان از جمله میگوهای پرورشی استفاده می‌شود (گاتسوپ<sup>۲</sup>، ۱۹۹۹). همچنین جهت به حداکثر رساندن استفاده از ترکیبات غذایی و در نتیجه کارایی بهتر تغذیه و افزایش قابلیت هضم مواد غذایی و کاهش هزینه‌های ناشی از تهیه غذا از مکمل‌های غذایی آنزیمی استفاده می‌شود (ونک<sup>۳</sup>، ۱۹۹۲).

<sup>1</sup> Bugel

<sup>2</sup> Gatosoupe

<sup>3</sup> Wenk

## ۲-۱- کلیات

### ۱-۲-۱- آنزیم‌ها

آنزیم‌ها مولکول‌های بزرگ زیستی‌اند که مسئول هزاران فرآیند متابولیکی جهت حفظ حیات در موجود زنده هستند (اسمیت<sup>۱</sup>، ۱۹۹۷). در واقع آنزیم‌ها کاتالیزورهای انتخابی هستند که تا حد زیادی سبب افزایش سرعت واکنش‌های متابولیکی شامل: هضم مواد غذایی تا سنتز DNA می‌شوند. اکثر آنزیم‌ها ماهیت پروتئینی دارند، اگرچه برخی از مولکول‌های RNA شناسایی شده‌اند که ساختار سه بعدی خاصی دارند. برای نخستین بار در اواخر قرن ۱۷ و اوایل قرن ۱۸ دانشمندان پی به فرآیند هضم شدن گوشت توسط ترشحات معده (ریمور<sup>۲</sup>، ۱۷۵۲) و همچنین تبدیل نشاسته به قند توسط عصاره‌های گیاهی شدند. اما مکانیسم این واکنش‌ها مشخص نبود (ویلیامس<sup>۳</sup>، ۱۹۰۴).

در سال ۱۸۳۳ شیمی‌دان فرانسوی توانست اولین آنزیم را کشف کند (پاین<sup>۴</sup>، ۱۸۳۳). چند دهه بعد لوئیس پاستور<sup>۵</sup> مشاهده کرد که تخمیر قند به الکل توسط واکنش‌های حیاتی صورت می‌گیرد که این واکنش‌ها در بدن موجود زنده به صورت واکنش تخمیری می‌باشد. همچنین وی بیان کرد که تخمیر یک عمل در ارتباط با زندگی و متابولیسم سلولی است که سبب مرگ و فساد سلولی نمی‌شود (دابوس<sup>۶</sup>، ۱۹۵۱). بعدها مطالعات زیادی جهت شناخت مکانیسم واکنش آنزیم‌ها انجام گرفت. سرانجام در سال ۱۸۹۷ ادوارد بوچنر<sup>۷</sup> برای نخستین بار مقاله‌ای با عنوان توانایی عصاره مخمر در تخمیر قندها بدون هیچ‌گونه سلول مخمر زنده منتشر کرد و نام آنزیم را بر روی آن گذاشت.

آنزیم‌های گوارشی آنزیم‌هایی هستند که مولکول‌های پلیمری را به بلوک‌های کوچک‌تر تبدیل کرده و جذب این مواد را برای موجود زنده راحت‌تر می‌کنند. آنزیم‌های هضمی در مسیر دستگاه گوارش

<sup>1</sup> Smith

<sup>2</sup> Réaumur

<sup>3</sup> Williams

<sup>4</sup> Payen

<sup>5</sup> Louis Pasteur

<sup>6</sup> Dubos

<sup>7</sup> Buchner's

موجود زنده و همچنین در گیاهان گوشت خوار وجود دارند. در واقع این آنزیم‌ها در درون سلول، بخصوص در لیزوزیوم سلولی ذخیره شده تا حیات سلولی حفظ شود. آنزیم‌های گوارشی بسیار متنوع بوده و از بخش‌های مختلفی از بدن موجود زنده ترشح می‌شوند. به عنوان مثال آنزیم‌های بزاقی از بزاق دهان، آنزیم‌های معدوی از سلول‌های دیواره داخلی معده، آنزیم‌های مایع پانکراس توسط سلول‌های خارجی لوزالمعده و آنزیم‌های رودوی توسط سلول‌های دیواره داخلی روده بزرگ و کوچک ترشح می‌شوند. این آنزیم‌ها بر اساس نوع ماده قابل هضم به ۴ گروه تقسیم می‌شوند که شامل:

- پروتئاز و پپتیداز: که پروتئین‌های کوچک را به اسید آمینه و پپتیدهای کوچک تبدیل می‌کنند.
- لیپاز: جهت تبدیل چربی‌ها به تری گلیسیرید و گلیسرول.
- ربوهیدراتاز: جهت شکستن کربوهیدرات‌هایی نظیر قندها و نشاسته به قندهای کوچک‌تر نظیر گلوکز.
- نوکلئاز: اسیدهای نوکلئیک را نوکلئوتید تبدیل می‌کند.

در مجموع همه موجودات برای هضم مواد غذایی به آنزیم نیاز دارند. این آنزیم‌ها می‌تواند به وسیله خود موجود زنده و یا به وسیله میکروارگانیسم‌هایی که به طور طبیعی در روده آن‌ها زندگی می‌کنند تولید شوند. مکمل سازی غذا با آنزیم‌های ویژه باعث بهبود ارزش غذایی، افزایش کارایی هضمی، و کاهش هزینه‌های تغذیه به وسیله شکستن عناصر غیرمغذی شده و به موجود اجازه می‌دهد غذا را با کارایی بهتری جذب کند (بدفورد و پاتریدج<sup>۱</sup>، ۲۰۱۱).

#### ۱-۲-۲- پروبیوتیک‌ها

استفاده از پروبیوتیک‌ها جهت افزایش سلامت انسان موضوع جدیدی نیست، بلکه هزاران سال است که مردم از مواد تخمیری به ویژه فراورده‌های لبنی حاوی میکروب‌های مفید استفاده می‌کنند. واژه پروبیوتیک از دو کلمه Pro به معنی (برای) و کلمه bio به معنی (زندگی) گرفته شده و در کل به معنی برای زندگی می‌باشد (زیوکویک<sup>۲</sup>، ۱۹۹۹). تاکنون تعاریف بسیاری در مورد پروبیوتیک‌ها

<sup>1</sup> Bedford & Partridge

<sup>2</sup> Zivkovic

بیان شده است. برای نخستین بار لی لی و استیل ول<sup>۱</sup> (۱۹۶۵) واژه پروبیوتیک را برای مواد مترشحه میکروارگانیسم‌ها به کاربرد که موجب تحریک رشد در میکروارگانیسم‌های دیگر می‌شود. همچنین پارکر<sup>۲</sup> (۱۹۷۴) پروبیوتیک‌ها را به‌عنوان میکروارگانیسم‌هایی که در تعادل روده نقش دارند معرفی کرد. در تعریف کامل‌تری گاتسوپ (۱۹۹۹) بیان داشت که پروبیوتیک‌ها سلول‌های تک‌یاخته‌ای هستند که از طریق ورود به لوله گوارشی میزبان سبب بهبود سلامتی و افزایش بقاء می‌شوند. سرانجام تعریف جامع‌تری از پروبیوتیک‌ها توسط فولر<sup>۳</sup> (۱۹۸۹) ارائه گردید که بر اساس این تعریف پروبیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی زنده‌ای هستند که اثرات مثبتی بر میزبان به‌وسیله بهبود تعادل میکروبی در روده میزبان دارند، که این تعریف کامل‌ترین تعریفی است که برای باکتری‌های پروبیوتیکی بیان شده است. مدت‌زمان زیادی است که باکتری‌های پروبیوتیکی در حیوانات اهلی مورد استفاده قرار می‌گیرند (استاوریک و کورنگی<sup>۴</sup>، ۱۹۹۵) و تأثیرات مفید این میکروارگانیسم‌ها در دامپزشکی به‌خوبی شناخته شده است (سیسونز<sup>۵</sup>، ۱۹۸۹). از جمله فواید استفاده از پروبیوتیک‌ها شامل: بهبود ارزش غذایی، کمک به هضم غذا با تولید طیف وسیعی از آنزیم‌ها و تحریک سیستم گوارشی موجود جهت ترشح آنزیم‌های گوارشی، مهار میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، ایجاد عملکرد رشد بهتر در موجود زنده، دارا بودن فعالیت‌های ضد سرطانی (با از بین بردن باکتری‌های مضر در دستگاه گوارش که تولید ترکیبات شیمیایی سرطان‌زا می‌کنند) و افزایش پاسخ ایمنی هست (ورشور<sup>۶</sup> و همکاران ۲۰۰۰). در واقع استفاده از سویه‌های مختلف پروبیوتیک‌ها در پرورش موجودات آبی با افزایش نیاز به بهبود وضعیت محیط زیست آبیان در حال افزایش است (گاتسوپ، ۱۹۹۹). تأثیرات مثبت پروبیوتیک‌ها ممکن است نمایانگر قدرت آن‌ها در رقابت با دیگر باکتری‌ها باشد (آستین<sup>۷</sup> و همکاران، ۱۹۹۵).

<sup>۱</sup> Lilley & Stillwell

<sup>۲</sup> Parker

<sup>۳</sup> Fuller

<sup>۴</sup> Stavric and Kornegay

<sup>۵</sup> Sissons

<sup>۶</sup> Verschuere

<sup>۷</sup> Austin

یکی از اساسی‌ترین مشکلات موجود در تفریخ‌گاه‌های میگو و ماهیان بیماری‌های باکتریایی است (گومزگیل<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۰) که جهت مبارزه با این مسئله تاکنون روش‌های مختلفی به کار گرفته شده است از جمله استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها که در مبارزه با بیماری‌های باکتریایی کاربرد فراوانی دارد (لازون<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۸). بدلیل اینکه استفاده از این مواد خود سبب مشکلات بیشتری از جمله مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا نسبت به داروها و ایجاد مشکلات زیستی است. به همین دلیل در روش‌های جدید با استفاده از غنی‌سازی غذای زنده از جمله آرتمیا، روتیفر و دافنی با باکتری‌های پروبیوتیکی و استفاده آن توسط آبزیان سبب افزایش مقاومت آن‌ها نسبت به عوامل بیماری‌زایی محیط و بهبود عملکرد رشد و بقا و بهینه‌سازی پارامترهای کیفی آب می‌شوند (ایریانتو و آستین<sup>۳</sup>، ۲۰۰۲).

#### ۱-۲-۳- انواع پروبیوتیک‌ها و روش‌های استفاده از آنها در جیره آبزیان

به‌طورکلی پروبیوتیک‌های رایجی که در آبی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل: لاکتوباسیلوس-ها، بیفیدوباکترها، مخمرها و بعضی از گونه‌های استرپتوکوکسی‌ها و کپک‌ها است. باکتری‌های پروبیوتیکی را می‌توان به روش‌های مختلفی در آبی‌پروری مورد استفاده قرار داد. بدین صورت که برخی از آنها را به جیره غذایی و یا به آب محیط پرورشی موجود آبی اضافه می‌کنند (ایریانتو و آستین، ۲۰۰۲). این در حالی است که در روش دیگر به نام غنی‌سازی غذای زنده با باکتری‌های پروبیوتیکی می‌توان اشکال مختلفی از باکتری‌های پروبیوتیکی را به موجود آبی انتقال داد.

#### ۱-۲-۴- فرضیه‌ها:

- ۱- پروبیوآنزیم سبب افزایش نرخ رشد و بقا در پست لارو میگوی وانامی (*L. vannamei*) می‌شود.

<sup>1</sup> Gomez-Gill

<sup>2</sup> Lauzon

<sup>3</sup> Irianto & Austin



۲- پروبیوآنزیم سبب تغییر ترکیب لاشه در پست لارو میگوی وانامی (*L. vannamei*) می‌شود.

۱-۲-۵- هدف:

بررسی امکان استفاده از پروبیوآنزیم به منظور افزایش نرخ رشد و کاهش تلفات در دوره لاروی و همچنین تغییر در ترکیب لاشه در پست لارو میگوی وانامی (*L. vannamei*) جهت تولید محصولی با کیفیت برای عرضه به بازار.

فصل دوم

سابقہ تحقیق

## ۲-۱- سوابق تحقیق

## ۲-۱-۱- مطالعات انجام گرفته در داخل کشور

یکی از مشکلات بزرگ در آبی پروری کشورمان هزینه بالای تهیه غذا و همچنین نگرانی از بازده کم غذا در قبال این هزینه سنگین است. در واقع هدف ما حداکثر استفاده از تمامی اجزای موجود در جیره غذایی جهت رسیدن به بهترین بازده در قبال هزینه صرف شده و در نهایت تولید بالا است. افزایش قابلیت هضم غذا نه تنها سبب کاهش هزینه‌ها به ازای هر واحد تولید شده، بلکه سبب کاهش آلودگی محیط پرورشی آبی و جلوگیری از ایجاد بیماری می‌شود. آنزیم‌های هضمی گروهی از آنزیم‌ها هستند که با شکستن مولکول‌های پلیمری به اجزای کوچک‌تر سبب تسهیل در جذب آن‌ها توسط دستگاه گوارش موجود زنده می‌شوند. استفاده از آنزیم‌های هضمی مکمل سازی شده در جیره آبزیان در کشورمان سابقه چندانی ندارد. باین‌حال مطالعاتی در این زمینه انجام گرفته است.

در مطالعه‌ای فرهنگی<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که استفاده از مکمل‌های آنزیمی در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) حاوی مقادیری لپه (غلات) سبب افزایش قابلیت هضم ظاهری پروتئین و افزایش نرخ تغذیه‌شده ولی تأثیری بر فعالیت آنزیم‌های هضمی و ترکیب لاشه نداشته است.

قبادی و همکاران<sup>۲</sup> (۱۳۸۸) گزارش کردند که استفاده از مکمل آنزیمی آویزایم شامل آنزیم‌های پروتئاز، زایلاناز و آمیلاز کارایی مثبتی در برطرف نمودن اثرات منفی استفاده از آرد سویا در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد و به تبع آن موجب بهبود شاخص‌های رشد و بقا این ماهی‌ها می‌گردد. همچنین با اضافه کردن مکمل آنزیمی آویزایم می‌توان آرد سویا را تا ۳۹٪ در جیره افزایش داد.

همچنین مطالعات کازرانی و شهبانوی<sup>۳</sup> (۲۰۱۱) نشان داد که استفاده از مولتی آنزیم تجاری W Endofeed شامل (xylanase,  $\beta$ -glucanase, cellulase and hemicellulose)، نه تنها

<sup>1</sup> Farhangi

<sup>2</sup> Ghobadi

<sup>3</sup> Kazerani and Shabsavani

تأثیری بر عملکرد رشد و FCR در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نداشته بلکه پیشنهاد کردند که دوزهای بالاتر ممکن است تأثیر منفی بر عملکرد رشد داشته باشد.

رحمتی<sup>۱</sup> و همکاران (۱۳۸۶) گزارش کردند که استفاده از آنزیم فیتاز بر قابلیت هضم ظاهری چهار نوع ماده گیاهی در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان، تأثیری بر فسفر موجود در اسکلت داخلی و قابلیت هضم ظاهری فسفر و پروتئین نداشته اما باعث افزایش قابلیت هضم ظاهری ماده خشک گردیده است.

در سال‌های اخیر در کشورمان مطالعات متعددی در زمینه تأثیر باکتری‌های پروبیوتیکی بر عملکرد رشد و بقاء و سایر شاخص‌های ارتقاء رشد و بهبود وضعیت سلامت در آبزیان صورت گرفته است.

ضیایی نژاد<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که استفاده از باکتری‌های پروبیوتیکی (*Bacillus subtilis*) در پرورش لارو و پست لارو میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) سبب افزایش عملکرد رشد و بقاء و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های هضمی می‌شود.

احمدنیا<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که استفاده از سطوح مختلف از باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* سبب افزایش رشد و فعالیت آنزیم‌های هضمی می‌شود.

همچنین باقری<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که استفاده از باکتری‌های پروبیوتیکی (*B. subtilis* and *B. licheniformis*) در جیره لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب افزایش نرخ بقاء و افزایش کارایی پروتئین، SGR و فاکتور وضعیت در تیمارهای آزمایشی شده است. در مطالعه دیگر آذری تاکامی<sup>۵</sup> و همکاران (۱۳۸۳) ۵ سویه از باکتری‌های پروبیوتیکی (پروتکسین آکواتیک)، را بر روی رشد و بازماندگی پست لارو میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) مورد آزمایش قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که باکتری‌های پروبیوتیکی تأثیر مثبتی بر رشد و بازماندگی میگوها داشته است.

<sup>1</sup> Rahmati

<sup>2</sup> Ziaei-Nejad

<sup>3</sup> Ahmadnia

<sup>4</sup> Bagheri

<sup>5</sup> Takami