magiran.com

بررسی برخی از اعضای خانواده ویبریوناسه (Vibrionaceae) به عنوان پروبیوتیک در پرورش میگو

محمدرضا حسن نیا[۱]*؛ فرزانه عزیز محسنی[۲]؛ وحید یگانه[۳] و سعید گنجور [۴]

hassannia_mr@yahoo.com

۱- موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

۲- مرکز کلکسیون قارچها و باکتریهای، پژوهشکده بیوتکنولوژی وزارت علوم، تهران صندوق پستی: ۱۱۱-۳۷۵۷۵

۳ و ۴- مرکز تحقیقات میگوی کشور، بوشهر صندوق پستی: ۱۳۷۴

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۸۵

چکیده

جهت بررسی تاثیر باکتریهای خانوادهٔ ویبریوناسه به عنوان پروبیوتیک بر روی رشد، بازماندگی و مقاومت میگوها در مراحل تکثیر و پرورش، از آب دریا، آب و لجن کارگاههای تولیدی و همچنین میگوهای پرورشی باکتریهای مختلفی مانند: ***Vibrio alginolyticus*** **(sero type1-4),** ***Vibrio splendidus*** **I,** ***Vibrio fluvialis*** **II,** ***Vibrio anguillarumI, Vibrio costicul, Vibrio nereis, Vibrio camplbelli, Vibrio natriegens, Vibrio proteolyticus,*** ***Vibrio plegius*** **II,** ***Vibrio fischeri, Aeromonas hydrophila, Aeromonas schuberti, Aeromonas salmonisida, Aeromonas veronii*** جداسازی، شناسایی و لیوفیلیزه گردیدند. در آزمایشات مختلف اثرات این باکتریها بر مراحل مختلف زندگی میگو و غذای زنده مورد استفاده از جمله جلبکهای کتوسروس، تتراسلمیس و اسکلتونما در سه مرحله متفاوت از ناپلیوس سه و چهار تا پست لاروی سیزده و چهارده و مراحل بالاتر آن بررسی شد. بعضی از سروتایپها در محیط کشت و آزمایشات پروبیوتیک واکنشهای متفاوتی از خود نشان دادند. از جمله نتایج این تحقیق سروتایپ ۱ ***Vibrio alginolyticus*** با تراکم $۱۰^۷$ سلول در هر میلی‌لیتر توانست تولید جلبک تتراسلمیس را طی شش روز به مقدار ۷۱ درصد افزایش دهد. سروتایپ ۴ این باکتری با تراکم $۱۰^۵$ توانست تولید تتراسلمیس را طی دوره‌ای مشابه ۳۸۹ درصد افزایش دهد. ***Vibrio splendidus*** **I** توانست موجب افزایش طول در پست لارو چهار به میزان ۲۳ درصد شده و ترکیب ***Vibrio alginolyticus*** **+** ***Vibrio fischeri*** موجب بهبود طول و وزن لاروهای میگو به طور معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد گردد.

لغات کلیدی : ویبریوناسه، میگو، جلبک، پروبیوتیک

* نویسندهٔ مسئول

magiran.com

مقدمه

ویبریوناسه شاخه‌ای از خانوادهٔ باکتریهای میله‌ای گرم منفی، اندکی خمیده یا مستقیم، بی‌هوازی اختیاری، به ابعاد ۳/۵ – ۱ در ۱-۰/۳ میکرون و فاقد اسپور می‌باشند. متابولیسم آنها به طریق کموارگانوتروف بوده و تنفس هوازی (اکسیداتیو) و تخمیری (بی هوازی) دارند. اکثراً اکسیداز مثبت هستند. خانواده ویبریوناسه شامل جنسهای ویبریو، پلزیوموناس[1] و آئروموناس[2] می‌باشند (Bergey's Manual Systematic Bacteriology, 1984). اکثر گونه‌ها بخوبی در محیطهای آبزی بویژه در محیطهای دریایی و مصبها که میزان مواد آلی زیاد است، وجود دارند. یونهای سدیم موجب تحریک رشد همه گونه‌ها شده و برای بسیاری از گونه‌ها ضروری است. ویبریوها در حقیقت عوامل بیماریزای فرصت طلب هستند و میکروفلور طبیعی بدن میگو محسوب می‌گردند (مجیدی نسب، ۱۳۷۷). ویبریوزیس به عنوان یکی از مهمترین و جدی‌ترین بیماریهای ذکر شده در استخرهای پرورش مونودون مطرح است و می‌تواند سبب تلفات و خسارات قابل توجه تا ۱۰۰ درصد گردد (Sindermann & Lightner, 1988). در مزارع پرورش میگوی تایلند، شیوع آلودگی به ویبریو معمولاً در خلال ۲۱ تا ۷۰ روز پس از ذخیره‌دار کردن استخرها به وقوع می‌پیوندد و معمولاً ۸۶/۶۹ درصد موارد با آلودگی همراه می‌باشد (Nash, 1990). این خانواده همانند آئروموناسهای آب شیرین حاوی مهمترین پاتوژنهای باکتریال ماهیان دریایی است.

نکات با اهمیت در بیماریزایی خانواده ویبریوناسه این است که:

۱- فقط گونه‌های مشخصی از این جنس بیماریزا می‌باشند.

۲- ممکن است در گونه‌ای که بیماریزا شناخته می‌شود نژادهایی یافت شوند که غیر مضر بوده، در بیماریها نقش عوامل ثانویه را ایفا کنند. بطور مثال از نظر سرولوژیک حداقل دو زیر گونه متمایز از ویبریو سالمونیسیدا وجود دارد (Schroder *et al.*, 1993).

۳- ممکن است گونه‌های متفاوت ویبریو منشاء یک بیماری با شدتهای متفاوت باشند. مانند بیماریزایی ویبریو اردالی و ویبریو آنگوئیلارم که تفاوت خاصی با یکدیگر نداشته اما شدت ویبریو اردالی کمتر است (سلطانی، ۱۳۷۵).

۴- برخی از گونه‌های ویبریو می‌توانند آنتاگونیسم گونه‌های دیگر این خانواده باشند. همچنین در خنثی‌سازی اثرات (Infectious Hematopoietic Necrosis Virus) IHNV و (OMV Oncorhynchus Masou Viruse) در هچری میگو از *Vibrio sp.* استفاده گردیده است. (Direkbusarakom *et al.*, 1998).

در این تحقیق خانواده ویبریوناسه از دو بعد مورد توجه قرار گرفتند: اولا ویبریوناسه یکی از مهمترین پاتوژنهای میگو می‌باشند که شناخت رفتار این نوع باکتری در محیط پرورشی میگو اهمیت اساسی دارد. ثانیاً این خانواده از مهمترین باکتریهای مطرح در مباحث پروبیوتیک می‌باشد و می‌تواند حتی چرخه ویروس را قطع نماید (Gatesoupe, 1999).

مواد و روش کار

سویه‌های باکتری از نمونه‌های آب، لجن و میگوهای پرورشی کارگاههای تولیدی و از آب دریا استخراج شدند. این نمونه‌ها در شیشه‌های استریل در پیچ‌دار در ابعاد ۲۵۰ و ۵۰۰ سانتیمتر مکعبی تهیه و جهت جدا سازی، خالص‌سازی و تهیه آمپولهای لیوفیلیزه به آزمایشگاه ارسال شد.

محیطهای کشت زیر جهت جداسازی باکتریها مورد استفاده قرار گرفتند:

آب دریای مصنوعی: نمک طعام ۲۳/۴ گرم، سولفات منیزیم ۶ آبه ۲۴/۶ گرم، کلرور پتاسیم ۱/۵ گرم، کلرور کلسیم ۲ آبه ۲/۹ گرم، آب مقطر ۱۰۰۰ میلی‌لیتر.

محیط پایه: تریس آمینومتان (متیل هیدروکسی) ۵۰ تا ۱۰۰ میلی مول یا ۶/۱ تا ۱۲/۱ گرم (که pH آن با اسید کلریدیک در ۷/۵ تنظیم شد)، کلرورآمونیوم ۱ گرم، منو فسفات پتاسیم ۳ آبه ۷۵ میلی‌گرم، سولفات فرو ۷ آبه ۲۸ میلیگرم.

محیط پایه آگار: آگار ۲۰ گرم، محیط پایه ۱۰۰۰ میلی‌لیتر.

محیط عصاره مخمر: عصاره مخمر ۵ گرم، محیط پایه ۱۰۰۰ میلی‌لیتر.

محیط غنی‌کننده آب دریا: تریس اسید کلریدریک (۷/۵=pH)، کلرور آمونیوم ۰/۵ گرم، منوفسفات پتاسیم ۰/۳۸ گرم، سولفات فرو ۷ آبه ۱۴ گرم، منبع کربن ۰/۵۹ گرم.

محیط مایع عصاره مخمر: عصاره مخمر ۵ گرم، محیط پایه ۱۰۰۰ میلی‌لیتر.

1- *Plesiomonas*
2- *Aeromonas*

magiran.com

محیط آگار عصاره مخمر: آگار ۲۰ گرم، محیط مایع عصاره مخمر ۱۰۰۰ میلی‌لیتر.

جدا سازی باکتریها :

از هر نمونه مایع (لجن یا آب) ۱۰ میلی‌لیتر جدا کرده و بعد از سانتریفوژ مایع رویی را دور ریخته و از رسوب برای کشت میکروبی استفاده شد. بدین ترتیب که ابزار نمونه‌برداری را به رسوب بجا مانده آغشته کرده و در محیطهای جامد و به صورت خطی برای جدا کردن کلنی‌های باکتری کشت داده شدند. سپس ۵۰۰ میلی‌لیتر از هر نمونه را وارد ارلن‌های حاوی ۲۵ میلی‌لیتر مایع غنی‌کننده نموده و در روی شیکر با ۷۰ دور در دقیقه در دمای اطاق قرار داده شدند. در روزهای ۱، ۳، ۵ و ۱۰ نمونه‌برداری انجام شده و بعد از سانتریفوژ از رسوب آنها روی محیطهای جامد جدید برده شد (Holt *et al.*, 1989).

میگو: هپاتوپانکراس نمونه‌های میگو برای جداسازی باکتریها مورد استفاده قرار گرفت. هپاتوپانکراس را درون ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک له نموده و با ابزار نمونه‌برداری روی محیطهای جامد تلقیح و متعاقباً کشت خطی داده شدند (Holt *et al.*, 1989). بعد از جدا سازی و تفکیک کلنی ها از نظر میکروسکوپی و ماکروسکوپی آزمونهای تشخیصی انجام شد (Star *et al.*, 1989).

جهت نگهداری موقت هرکدام از سوشهای جدا شده از محیط کشت قندی / نمکی قلبی مغزی[1] استفاده شد و همچنین آزمونهای شناسایی از روی این محیط انجام شد. برای نگهداری بلند مدت از روشهای فریز کردن (۸۰- تا ۷۰- درجه سانتیگراد) و لیوفیلیزاسیون استفاده شد.

برای تکثیر باکتریهای جدا شده، هرکدام از این باکتریها در یک لیتر محیط BHI,SS (۱۰ ارلن ۵۰۰ سانتیمتر مکعبی که هرکدام حاوی ۱۰۰ سانتیمترمکعب محیط بود) تلقیح شده و بعد از ۲۴ ساعت سلولها با g ۶۰۰۰ به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه تغلیظ شده و بعد از شمارش اولیه (تعیین تعداد سلولهای موجود در توده موجود از طریق تهیه رقت و شمارش کلنی‌ها) لیوفیلیزه و به صورت پودر تهیه شدند. بعد از لیوفیلیزاسیون نیز تعداد سلولهای زنده در واحد وزن خشک نیز محاسبه شد.

شناسایی باکتریها با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی و کلیدهای معتبر انجام گرفت (Star *et al.*, 1989 ; Frankel et al., 1970 ; Holt *et al.*, 1989). لاروهای میگو از مراکز تکثیر کارگاه سرتل و کارگاههای تولیدی تهیه گردید.

جلبکهای کتوسروس، اسکلتونما و تتراسلمیس در آزمایشگاه مرجع کشت و پرورش جلبک کارگاه سرتل پژوهشکده میگوی کشور با استفاده از محیط کشت‌های جلبک (Palanisamy *et al.*, 1991) تکثیر و در اختیار قرار می‌گرفت.

جهت بررسی اثر باکتریها بر روی جلبکها و لاروهای میگو از دو فضای متفاوت استفاده شد:

۱- آزمایشگاه: در آزمایشگاه پروبیوتیک چهار میز با سطح ۱۰۰ در ۱۰۰ سانتیمتر و به ارتفاع ۱۲۰ سانتیمتر تهیه شد که بر روی آن ۱۶ حفره مناسب برای استقرار ظروف ۱/۵ لیتری تعبیه شد. هوادهی این ظروف از طریق لوله‌های شیشه‌ای ال شکل با قطر ۴ میلیمتر انجام شد. بررسی اثرات باکتری از ناپلیوس پنج تا پست لاروی پنج در این ظروف انجام شد. برای بررسی اثر باکتری از پست لاروی پنج به بالا از ظروف بزرگتر استفاده گردید.

۲- سالن: بخشی از بررسیها درخصوص لاروهای میگو بالاتر از پست لاروی ۳۰، در ونیروهای ۳۰۰ لیتری انجام گرفت.

برای انجام هر آزمایش پس از استفاده از آب ضد عفونی شده در ظروف مخصوص آزمایش، هوادهی صورت گرفته و سپس به مقدار مورد نظر لارو میگو یا جلبکهای مورد مطالعه اضافه شده و بعد از گذشت ۲۴ ساعت باکتری با مقادیر اعلام شده به محیط کشت آبزی وارد می‌شد و تغییرات تعداد جلبکها در هر روز، زیست‌سنجی و بقای لاروها در پایان دوره ثبت گردید (Lavens & Sorgeloos, 1996).

در کلیه مراحل آزمایشات از طرح بلوکهای تصادفی با سه تکرار استفاده شد. جهت پردازش از بانک اطلاعاتی در محیط اکسل استفاده گردید. آزمونهای تفاوت میانگینهای دانکن در محیط نرم افزاری استات گراف استفاده گردید. نتایج آزمایشات به صورت میانگین بعلاوه و منهای خطای استاندارد نمونه ارائه شده است ($P<0.05$).

نتایج

نمونه‌های ویبریو جدا شده با استفاده از تستهای بیوشیمیایی شناسایی شدند. باکتریهای زیر بخشی از فلور باکتریایی منطقه مورد مطالعه می‌باشند:

[1] - BHI,SS (Brain heart infusion) (حاوی ۱٪ سوکروز و ۱/۵٪ نمک)

magiran.com

Vibrio alginolyticus(sero type1-4), *Vibrio splendidus* I, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio fluvialis* II, *Vibrio anguillarum* I, *Vibrio costicul*, *Vibrio nereis*, *Vibrio camplbelli*, *Vibrio natriegens*, *Vibrio proteolyticus*, *Vibrio plegius* II, *Vibrio fischeri*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas schuberti*, *Aeromonas salmonisida*, *Aeromonas veronii*

آزمایش۱: در این آزمایش اثر باکتریهای *Vibrio alginolyticus* و *Vibrio splendidus* I بر جلبکهای اسکلتونما، کتوسروس و تتراسلمیس بررسی شد. جدول ۱ تغییرات جلبکها بر اثر باکتریهای فوق را نشان می‌دهد. تعداد جلبکها با فاکتور ۱۰۰۰ ارائه شده‌اند.

آزمایش ۲ : در این آزمایش اثر باکتری *Vibrio splendidus* بر رشد و بازماندگی میگوی ببری سبز از پست لاروی چهار الی چهارده بررسی گردید. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و تفاوت میانگینها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که بین طول و وزن و بقای میگوهای بررسی شده تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

آزمایش ۳ : در این آزمایش اثر باکتریهای *Vibrio anguillarum* I, *Vibrio splendidus*, *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas veronii*

بر رشد و بازماندگی میگوی سفید هندی از ناپلیوس پنج تا پست لاروی سه همراه با جلبک تتراسلمیس بررسی گردید. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و تفاوت میانگینها با استفاده از آزمون دانکن در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول۱: تغییرات تعداد جلبکهای مختلف آزمایش شماره یک در اثر مجاورت با بعضی باکتریهای خانواده ویبریوناسه در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<0.05$) با استفاده از آزمون دانکن

تعداد $\times 10^3$

باکتری		طول دوره اثردهی باکتری بر جلبک	جلبک		
نام باکتری	مقدار باکتری در هر میلی‌لیتر		نام جلبک	تراکم جلبک بر اثر باکتری $\times 10^3$ Mean±sd	تراکم جلبک شاهد بدون استفاده از باکتری $\times 10^3$ Mean±sd
Vibrio alginolyticus	5×10^5	شش روز	تتراسلمیس	^{cb}۸۵۵± ۹۸	^{a}۵۷۰±۱۶
	10^6			^{ba}۷۲۱±۱۲۸	
	10^7			^{c}۹۷۳±۵۶	
Vibrio splendidus I	5×10^5	شش روز	کتوسروس	^{a}۱۴۰۳±۱۶۵	^{a}۱۷۱۳±۴۲۹
	10^6			^{a}۱۶۴۰±۱۴۶	
	10^7			^{a}۱۹۰۷±۱۷۷	
Vibrio alginolyticus	5×10^5	چهار روز	کتوسروس	^{a}۱۱۰۷±۱۸۴	^{a}۸۵۳±۵۵
	10^6			^{a}۱۱۰۰±۱۸۷	
	10^7			^{b}۱۱۵۷±۱۱۴	
Vibrio alginolyticus	5×10^5	سه روز	اسکلتونما	^{c}۳۰۷±۴۳	^{a}۲۶۹±۱۷
	10^6			^{d}۲۱۶±۲۹	
	10^7			^{a}۲۶۸±۲۶	
Vibrio splendidus I	5×10^5	سه روز	اسکلتونما	^{a}۲۲۶±۲۰	^{b}۲۷۰±۲۰
	10^6			^{b}۲۶۷±۲۵	
	10^7			^{b}۲۶۰±۴	

علائم a، b، c و d حاصل از آزمون تفکیک میانگینها و نشاندهنده تفاوت معنی دار در میانگینهای موجود می باشند.

magiran.com

جدول ۲: تفاوت میانگینهای آزمایش شماره ۳ در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<0.05$) با استفاده از آزمون دانکن

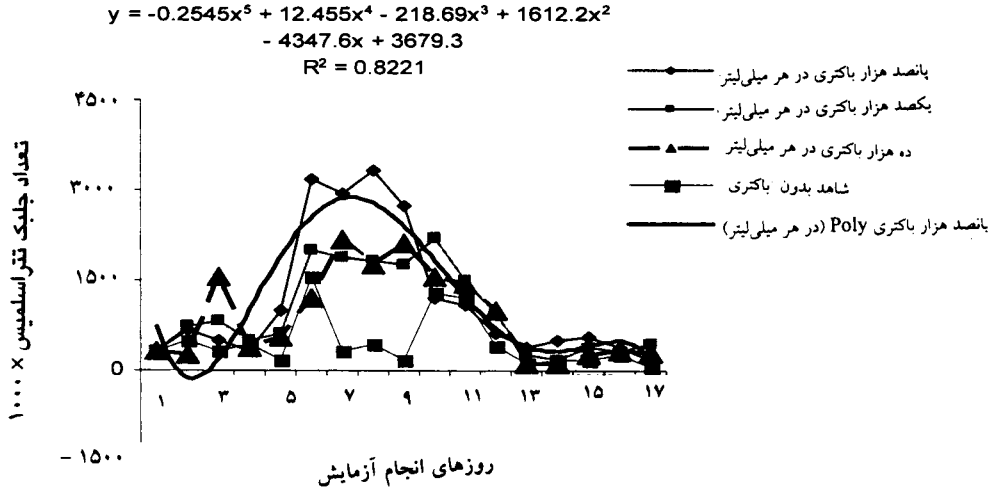
باکتری	مقدار باکتری در هر میلی‌لیتر	بقا به درصد (Mean±sd)	طول به میلیمتر (Mean±sd)
Vibrio splendidus	۵×۱۰^{۵}	^{a}۵۴/۶۷± ۲/۳۱	^{ba}۲/۴۷±۰/۲۹
	۱۰^{۶}	^{a}۳۸/۶۷±۱۶/۶۵	^{a}۲/۹۵±۰/۳
	۱۰^{۷}	^{a}۴۱/۳۳±۱۴/۰۵	^{b}۲/۱۹±۰/۱۲
Vibrio alginolyticus	۵ × ۱۰^{۵}	^{b}۳۸/۶۷±۱۸/۰۴	^{b} ۲/۸۴±۰/۱۳
	۱۰^{۶}	^{b} ۴۴±۴	^{c}۳/۱۸±۰/۰۱
	۱۰^{۷}	^{b}۴۰±۸	^{ba} ۲/۶۷±۰/۱۹
Aeromonas veronii	۵ × ۱۰^{۵}	^{c} ۶۰±۲۴/۹۸	^{a} ۳/۱۳±۰/۲
	۱۰^{۶}	^{c} ۵۸/۶۷±۱۰/۰۷	^{a}۳/۰۶±۰/۱۶
	۱۰^{۷}	^{c} ۶۰±۱۸/۳۳	^{a}۲/۵۶±۰/۰۷
Vibrio anguillarum I	۵ × ۱۰^{۵}	^{d}۳۶±۱۰/۵۸	^{a} ۲/۶۹±/۵۴
	۱۰^{۶}	^{d}۲۰±۲۸	^{a} ۱/۴۲±۱,۲۳
	۱۰^{۷}	^{d}۲۲/۶۷± ۱۸/۰۴	^{a}۲/۰۲±./۳۴

علائم a ، b ، c و d حاصل از آزمون تفکیک میانگینها و نشاندهنده تفاوت معنی‌دار در میانگینهای موجود می‌باشند.

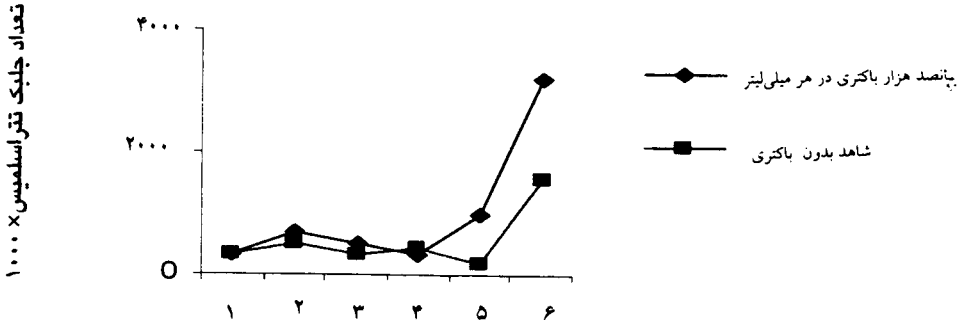
آزمایش ۴ : در این آزمایش اثر باکتریهای *Vibrio alginolyticus, Vibrio vulnificus, Aeromonas veronii* بر رشد و بازماندگی میگوی سفید هندی از پست لاروی چهار الی پست لاروی چهارده همراه با آرتمیا و غذای آرجنت بررسی شد. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه و تفاوت میانگینها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که بقای حاصل از تیمار شاهد که هیچگونه باکتری دریافت نکرده (۱۱/۰۲±۸۹/۶۷) بالاتر از بقای حاصل از بقای پست لاروی چهارده میگوی سفید هندی همراه با آرتمیا و غذای آرجنت به همراه باکتری *Vibrio splendidus* (۲/۳۱±۶۹/۶۷)، *Vibrio alginolyticus* (۵/۱۳±۶۹/۶۷) و *Aeromonas veronii* (۳±۶۷) می‌باشد. مقادیر حاصل از تیمارهای باکتریایی در بین خود تفاوت معنی‌داری ندارند.

آزمایش ۵: در این آزمایش اثر باکتریهای مختلف از جمله *Vibrio alginolyticus* بر روند رشد جلبکهای پرورشی و بالاخص جلبک تتراسلمیس بررسی گردید. طول دوره آزمایش تعیین اثر ویبریو آلجینولیتیکوس بر تترا سلمیس ۱۸روز بود. تعداد کل جلبکهای پرورشی در هر روز شمارش و ثبت شدند. نمودار ۱ تغییرات تعداد جلبک کتوسروس را نشان می‌دهد که فاز لگاریتمی رشد و فاز سکون و مرگ را بر اثر اعمال باکتری نشان می‌دهد. طی روزهای ۵ تا ۱۲ اثر باکتری موجب افزایش بیشتر در تغییرات تعداد جلبک شده است. در نمودار ۲ با برازش منحنی نمایی به اطلاعات حاصل از تغییرات جلبک تتراسلمیس، اثر باکتری در ایجاد نرخ سریعتر تغییرات مشخص‌تر می‌گردد. نمودارهای یک و دو تغییرات جلبک تتراسلمیس در ازای افزودن باکتری را نشان می‌دهند. جدول ۳ بخشی از اثرات باکتریها بر جلبکهای مختلف را نشان می‌دهد.

magiran.com



نمودار ۱: تغییرات جلبک تتراسلمیس بر اثر مجاورت باکتری *Vibrio alginolyticus*



نمودار ۲: مقایسه فاز لگاریتمی رشد جلبک تتراسلمیس بر اثر مجاورت باکتری

جدول ۳ : اثرات باکتریهای مختلف در تعداد جلبکهای پرورشی مورد استفاده در این طرح

	نام باکتری	تراکم باکتری	مدت	نام جلبک	درصد افزایش یا کاهش نسبت به شاهد
۱	*Vibrio alginolyticus*	$۱۰^{۷}$	شش روز	*Tetraselmis sp*	۷۱ درصد افزایش
۲	*Vbrio splendidus I*	تا یک میلیون	هفت روز	*Chaetoceros sp*	بی اثر
۳	*Vibrio alginolyticus*	$۱۰^{۷}$	شش روز	*Chaetoceros sp*	۳۵ درصد افزایش
۴	*Vibrio alginolyticus*	$۱۰^{۵}$	پنج روز	*Skeletonema sp*	۷۵ درصد افزایش
۵	*Vbrio splendidus I*	$۱۰^{۵}$	سه روز	*Skeletonema sp*	۱۶ درصد کاهش
۶	*Vibrio alginolyticus*	$۱۰^{۵}$	۶ روز	*Tetraselmis sp*	۱۹۸ درصد افزایش
۷	*Vibrio alginolyticus*	۵×۱۰^{۵}	۶ روز	*Tetraselmis sp*	۳۸۹ درصد افزایش
۹	*Vibrio alginolyticus*	۵×۱۰^{۵}	۱۲ روز	*Tetraselmis sp*	۱۴۲ درصد افزایش

magiran.com

آزمایش ۶: در این آزمایش اثر باکتریهای *Vibrio alginolyticus, Vibrio fischeri, Vibrio anguillarum* I, *Vibrio splendidus* I, *Aeromonas veronii, Aeromonas schuberti, Aeromonas hydrophila* بر رشد و بازماندگی لاروهای میگوی ببری سبز از مرحله پست لاروی هفده الی سی و هفت که در دو حالت همراه با *Vibrio fischeri* و بدون آن انجام گرفت. جداول ۴، ۵ و ۶ نتایج آنالیز واریانس و تفاوت میانگینها را نشان می‌دهد. جدول ۷ نشاندهندهٔ بخشی از نتایج اثر باکتریهای مختلف بر مراحل مختلف زندگی میگوهای پرورشی می‌باشند.

جدول۴ : نتایج بکارگیری همزمان دو نوع باکتری بر میزان بقای میگوهای ببری سبز در سطح اطمینان ۹۵ درصد (P<0.05) و تفکیک میانگینها براساس آزمون دانکن

باکتری	بقا	باکتری	بقا
Vibrio fischeri	^{ba}۵/۶۷±۲۱/۳۶	شاهد	^{a}۵۸±۱۱/۱۴
Vibrio alginolyticus	^{a}۷۱/۶۷±۴/۱۶	*Vibrio alginolyticus+ Vibrio fischeri*	^{a}۷۲/۳۳±۷/۵۱
Vibrio alginolyticus	^{a}۷۳/۳۳±۶/۱۱	*Vibrio alginolyticus+ Vibrio fischeri*	^{a}۶۰±۲۸
Vibrio anguillarum I	^{ab}۵۷±۲۲/۵۲	*Vibrio anguillarum* I + *Vibrio fischeri*	^{a}۶۴/۶۷±۱۹/۳
Vbrio splendidus I	^{a}۶۸±۱۲	*Vbrio splendidus* I+ *Vibrio fischeri*	^{a}۵۵/۳۳±۲۷/۹۳
Vibrio alginolyticus	^{b}۳۴/۳۳±۲/۰۸	*Vibrio alginolyticus+ Vibrio fischeri*	^{a}۶۱/۳۳±۱۷/۲۴
Aeromonas veronii	^{a}۷۲/۳۳±۱۲/۴۲	*Aeromonas veronii+ Vibrio fischeri*	^{a}۶۷±۱۱/۲۷
Vibrio alginolyticus	^{ab}۵۲±۲۱/۶۶	*Vibrio alginolyticus +Vibrio fischeri*	^{a}۶۴±۴/۵۸
Aeromonas schuberti	^{ab}۵۹±۱۹/۶۷	*Aeromonas schuberti+ Vibrio fischeri*	^{a}۶۳/۳۳ ±۱۶/۵
Aeromonas hydrophila	^{a}۷۲/۳۳±۷/۵۱	*Aeromonas hydrophila+ Vibrio fischeri*	^{a}۶۴/۶۷±۱۳/۶۱

علائم a و b حاصل از آزمون تفکیک میانگینها و نشاندهندهٔ تفاوت معنی‌دار در میانگینهای موجود می‌باشند.

جدول ۵ : نتایج بکارگیری همزمان دو نوع باکتری بر طول میگوهای ببری سبز در سطح اطمینان ۹۵ درصد (P<0.05) و تفکیک میانگینها براساس آزمون دانکن

باکتری	طول	باکتری	طول
Vibrio fischeri	^{b}۲۱/۴±۰/۶۲	شاهد	^{ab}۲۰/۴۶±۰/۴۷
Vibrio alginolyticus	^{b}۲۱/۸۱±۱/۲۵	*Vibrio alginolyticus+ Vibrio fischeri*	^{bc}۲۱/۸±۱/۱۶
Vibrio alginolyticus	^{b}۲۰/۶۹±۱/۰۱	*Vibrio alginolyticus+ Vibrio fischeri*	^{c}۲۳/۷۳±۱/۴۸
Vibrio anguillarum I	^{b}۲۱/۷۵± ۲/۵۵	*Vibrio anguillarum I + Vibrio fischeri*	^{c}۲۲/۷۳±۱/۹۶
Vbrio splendidus I	^{b}۲۱/۸۷±۱/۰۴	*Vbrio splendidus I+ Vibrio fischeri*	^{bc}۲۱/۶۷±۰/۸
Vibrio alginolyticus	^{a}۲۴/۲۹±۰/۳۱	*Vibrio alginolyticus+ Vibrio fischeri*	^{bc}۲۲/۵۱±۱/۳۹
Aeromonas veronii	^{b}۲۱/۰۱±۰/۹۳	*Aeromonas veronii+ Vibrio fischeri*	^{bc}۲۲/۳۶±۱/۰۹
Vibrio alginolyticus	^{a}۲۲/۰۴±۱/۷۱	*Vibrio alginolyticus +Vibrio fischeri*	^{bc}۲۱/۷۹±۱/۸۷
Aeromonas schuberti	^{b}۲۱/۴۶±۱/۶۶	*Aeromonas schuberti+ Vibrio fischeri*	^{a}۱۸/۷۱±۱/۳۲
Aeromonas hydrophila	^{b}۲۰/۸۸±۰/۶۵	*Aeromonas hydrophila+ Vibrio fischeri*	^{a}۱۹/۲۱±۰/۵۷

علائم a ، b و c حاصل از آزمون تفکیک میانگینها و نشاندهندهٔ تفاوت معنی‌دار در میانگینهای موجود می‌باشند.

magiran.com

جدول ۶ : نتایج بکارگیری همزمان دو نوع باکتری بر تغییرات وزن میگوهای ببری سبز در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<0.05$) و تفکیک میانگینها براساس آزمون دانکن

باکتری	وزن	باکتری	وزن
Vibrio fischeri	^{a}۲/۸۸ ±۰/۲۴	شاهد	^{ab}۳/۰۴±۰/۳۱
Vibrio alginolyticus	^{a}۳/۸۳ ± ۰/۵۳	*Vibrio alginolyticus+ Vibrio fischeri*	^{c}۴/۵۵±۱/۲۹
Vibrio alginolyticus	^{a} ۳/۷۸ ±۰/۵۶	*Vibrio alginolyticus+ Vibrio fischeri*	^{cb} ۴/۳۱±۱/۷۳
Vibrio anguillarum I	^{a}۳/۴۲ ±۰/۷۲	*Vibrio anguillarum I + Vibrio fischeri*	^{c}۵/۰۶±۰/۷۴
Vbrio splendidus I	^{a}۳/۸۷±۰/۱۱	*Vbrio splendidus I+ Vibrio fischeri*	^{abc}۳/۵۴±۰/۹۷
Vibrio alginolyticus	^{a}۳/۶۶±۰/۴۷	*Vibrio alginolyticus+ Vibrio fischeri*	^{bc}۴/۳۱±۰/۵۷
Aeromonas veronii	^{a}۳/۸۳±۰/۴۵	*Aeromonas veronii+ Vibrio fischeri*	^{c}۴/۷۲± ۰/۸۲
Vibrio alginolyticus	^{a}۳/۷۴±۱/۸۲	*Vibrio alginolyticus +Vibrio fischeri*	^{bc} ۴/۳۵±۱/۲۶
Aeromonas schuberti	^{a} ۲/۸۵±۰/۲۹	*Aeromonas schuberti+ Vibrio fischeri*	^{a}۲/۵۵±۱/۰۱
Aeromonas hydrophila	^{a}۴/۰۶ ±۱/۶۷	*Aeromonas hydrophila+ Vibrio fischeri*	^{ab}۲/۷۷±۰/۳۲

علائم a ، b و c حاصل از آزمون تفکیک میانگینها و نشاندهنده تفاوت معنی دار در میانگینهای موجود می باشند.

جدول۷ : اثر باکتریهای مختلف بر مراحل متفاوت میگوهای پرورشی در این طرح

شماره	نام باکتری	تراکم باکتری	سایر شرایط	مرحله زندگی میگو	درصد افزایش یا کاهش نسبت به شاهد
۱	*Vibrio splendidus*	$۱۰^{۵}$		پست لاروی ۴-۱۴ میگوی ببری سبز	بی اثر
۲	*Vibrio splendidus*	$۱۰^{۶}$	جلبک تتراسلمیس	ناپلیوس ۵- پست لاروی ۳ میگوی سفید هندی	بقا بی اثر
					افزایش طول ۲۳ درصد
۳	*Vibrio alginolyticus*	$۱۰^{۶}$	جلبک تتراسلمیس	ناپلیوس ۵- پست لاروی ۳ میگوی سفید هندی	بقا بی اثر
					افزایش طول ۲۳ درصد
۴	*Aeromonas veronii*	($۱۰^{۶}$ -۵×$۱۰^{۵}$)	جلبک تتراسلمیس	ناپلیوس ۵- پست لاروی ۳ میگوی سفید هندی	بقا بی اثر
					افزایش طول ۲۳ درصد
۵	*Vibrio anguillarum* I	($۱۰^{۶}$ -۵×$۱۰^{۵}$)	جلبک تتراسلمیس	ناپلیوس ۵- پست لاروی ۳ میگوی سفید هندی	بقا و طول بی اثر
۶	*Vibrio alginolyticus*	۱/۲×$۱۰^{۶}$	آرتمیا و غذای آرجنت	پست لاروی ۴- پست لاروی ۱۴ میگوی سفید هندی	کاهش بقا ۲۲ درصد
۷	*Vibrio vulnificus*	۱/۲×$۱۰^{۶}$	آرتمیا و غذای آرجنت	پست لاروی ۴- پست لاروی ۱۴ میگوی سفید هندی	کاهش بقا ۲۲ درصد
۸	*Aeromonas veronii*	۱/۲×$۱۰^{۶}$	آرتمیا و غذای آرجنت	پست لاروی ۴- پست لاروی ۱۴ میگوی سفید هندی	کاهش بقا ۲۲ درصد

magiran.com

بحث

طراحی این تحقیق بر اساس دو دیدگاه زیر انجام گرفته است:

Gatesoupe در سال ۱۹۹۹ مناسبترین مکانیسم اثر باکتریهای پروبیوتیک را با بهره‌گیری از مبانی اکولوژی میسر می‌داند. Lee *et al.*, در سال ۱۹۹۹وجود پربیوتیکها (Prebiotic) را در اثر بخشی پروبیوتیکها (Probiotics) بر مبنای Gibson & Roberfroid, 1995 ضروری می‌دانند. ایشان پربیوتیک را اجزای غذایی غیر قابل هضمی می‌دانند که بطور موثر بر عوامل محرک رشد و یا یکی یا تعداد محدودی از باکتریهای موجود در مجرای گوارشی اثر گذاشته و باعث بهبود میزبان می‌گردد.

یکی از فرضیات این طرح وجود اثرات همزیستی بین باکتریها و جلبکهای میکروسکوپی است. این رابطه می‌تواند از نوع سینتروپیسم باشد که تعیین مکانیسم دقیق آن محتاج بررسیهای بیشتر است. در اجرای تیمارهای این طرح جلبکها با مجاورت باکتریهای ویبریوناسه از خود عکس العمل نشان داده و تعداد آنها دستخوش تغییرات شد.

انواع سروتایپهای باکتری *Vibrio alginolyticus* مورد استفاده در این تحقیق بر جلبکهای تتراسلمیس، کتوسروس و اسکلتونما اثرات مثبتی در افزایش تعداد جلبکهای پرورشی دارند. باکتری I *Vibrio splendidus* بر کتوسروس با تراکم 10^6 بی اثر و با تراکم 10^5 بر جلبک اسکلتونها کاهش ۱۶درصد نشان می دهد. این تحقیق با تحقیق Fukami و همکاران در سال ۱۹۹۷ همخوانی دارد . ایشان با جداسازی باکتریها از آب دریا و افزودن آن به محیط کشت کتوسروس رشد بهتر این جلبک و اثر باکتری را بر گونه‌های همراه نیز مشاهده نمود. در تجربه Fukami و همکاران اثر حدود ۱۰۰ سویه باکتری بر جلبکهای ایجاد کننده پدیده جزر و مد قرمز بررسی شد که در این بررسی اثر *Vibrio sp.* بر کتوسروس مثبت بود.در تجربیات Suminto و Hirayama (۱۹۹۷) با افزودن باکتری به محیط کشت جلبک کتوسروس تولید بهتری را نتیجه گرفتند . Griffith در سال ۱۹۹۵ در مورد ابتلای هچریهای اکوادور به نوعی بیماری ویبریوزیس گزارش نمود که در این بیماری نسبت باکتری *Vibrio alginolyticus* کاسته شده در حالیکه نسبت *Vibrio parahaemolyticus* افزوده شد. در تحقیق ایشان *Vibrio alginolyticus* بعنوان پروبیوتیک جداسازی و بعنوان پروبیوتیک در بعضی هچری‌ها استفاده گردید و باعث افزایش بقا به میزان قبل از شروع بیماری گردید.

در نمودار یک با افزودن باکتری در فاصله زمانی روز ششم تا دوازدهم که در این جلبک و با شرایط خاص آن در آغاز فاز لگاریتمی رشد می‌باشد تغییرات در تمام تیمارها تمایل به افزایش تعداد جلبکها دارند با این تفاوت که نرخ بروز آنها در تیمارهای همراه باکتری بیشتر از تیمار شاهد است. نمودار شماره دو نشاندهندهٔ توان رشد بیشتر تکثیر جلبک در کنار باکتری می‌باشد. از این دو نمودار می‌توان چنین نتیجه گرفت:

۱- رشد در فاز لگاریتمی جلبک تتراسلمیس در حضور *Vibrio alginolyticus* شتاب بیشتری می‌گیرد.

۲- جلبک تتراسلمیس می‌تواند همزیست باکتری *Vibrio alginolyticus* محسوب گردد.

۳- جلبک و باکتری فوق می‌توانند به عنوان پربیوتیک و پروبیوتیک مورد توجه قرار گیرند.

همانند جلبکها، پست لاروهای میگو نسبت به افزودن باکتری در محیط از خود عکس‌العمل نشان می‌دهند. جدول ۷ بیانگر این عکس‌العمل‌ها می‌باشد.

Berg در گزارش سال ۱۹۹۵ از کنترل *Vibrio sp.* توسط خانوادهٔ Vibrionaceae خبر داد. Direkbusarakom و همکاران در سال ۱۹۹۸ توانستند بیماریهای ویروسی IHNV و OMV را بوسیله *Vibrio spp.* که از هچری میگو جداسازی شده بود، کنترل نمایند. Nair و همکاران در سال ۱۹۸۵ توانستند بوسیله *Vibrio spp.* که از هچری میگو جداسازی شده بود جهت مهار *Vibrio parahaemolyticus* مورد استفاده قرار دهند. Austin و همکاران در سال ۱۹۹۵ از *Vibrio alginolyticus* جهت خنثی سازی *Aeromonas salmonicida*، *Vibrio anguillarum* و *Vibrio ordalii* استفاده نمودند.

Ruangpan و همکاران در سال ۱۹۹۸ *Vibrio alginolyticus* را از هچری میگوی *Penaeus monodon* جداسازی نموده و *Vibrio harveyi*را بوسیله آن کنترل نمودند.

تحقیقات متعددی که در مورد تکثیر و پرورش میگو و بالاخص هچریهای میگو انجام شده است در حالاتی انجام پذیرفته که بدنبال سرایت بیماری درصدد چاره‌جویی برآمدند. در شرایط غیربیماریزا و در حالتی که تحقیق به منظور اهداف دیگر صورت می‌گیرد نزدیکترین تحقیق به طرح حاضر مربوط به Riquelme, 1996 می‌باشد که لاروهای اسکالوپ را به مدت یکساعت به باکتری *Alkaligenese haloplankits* آغشته نموده و سپس آنها را در معرض *Vibrio sp.* قرار دادند و نتایج را مطالعه نمود.

این تحقیق از جهات بسیاری با تحقیق Rengpipat و همکاران در سال ۱۹۹۸ شباهت دارد. ایشان باکتریهای مختلفی از میگوی ببری سبز جداسازی نموده و در اشکال مختلف نگهداری تیماربندی نمودند که پس از طی دوره پرورش تفاوت معنی‌داری حاصل نشد ولی پس از آلوده ساختن تیمارها به *Vibrio harveyi* تیمارهای پروبیوتیک بقای ۱۰۰ درصد از خود نشان دادند.

magiran.com

در این طرح اثرات همزمان یک باکتری از خانواده ویبریوناسه بر لاروهای میگوی ببری سبز و در وضعیت دیگر همان باکتری را همراه با باکتری *Vibrio fischeri* به محیط کشت افزوده شد و در حالاتی که هیچ آثاری از مرگ و میر ناشی از پاتوژنها مشاهده نشد، تغییرات در جداول ۳، ۴ و ۵ ارائه گردیده است.

اثر باکتری در لاروهای میگوهای پرورشی را می‌توان در دو مرحلهٔ متفاوت ارزیابی کرد:

الف- مراحل اولیه زندگی پست لاروهای میگو از ناپلیوس پنج تا پست لاروی پنج که باکتری بر پست لارو میگو دارای اثر مثبت یا بی‌اثر است.

ب- مراحل بعد از پست لاروی پنج که اگر از جلبکها استفاده شود اثر باکتری موثرتر و در صورتیکه از جلبک کمتر استفاده شود اثر باکتری منفی تر خواهد بود.

در مراحل اولیه زندگی وقتی که از جلبکها استفاده می‌گردد، افزایش در رشد وجود خواهد داشت. این اثر از افزایش ۲۳ درصد در طول لاروهای میگو در مقطع ناپلیوس ۵ تا پست لاروی ۳ میگوی سفید هندی همراه با جلبک تتراسلمیس و باکتری *Vibrio Splendidus* یا افزایش ۳۳ درصد در طول لاروهای همین میگو در همین مقطع و با همان جلبک و باکتری *Vibrio alginolyticus* قابل مشاهده است. باکتری I *Vibrio anguillarum* در این روند بر لارو میگو تاثیری ندارد.

در مراحل بعد از پست لاروی پنج در پارامترهای میگوی سفید هندی بر اثر افزودن باکتریهای *Aeromonas veronii*, *Vibrio anguillarum* I , *Vibrio vulnificus* و *Vibrio alginolyticus* کاهش مشاهده می‌شود و این در صورتی است که با کنترل شرایط محیطی سعی شد حداکثر ملاحظات بهداشتی بعمل آمده و در واقع کاهش بقاء ناشی از عملکرد سوء باکتری بر لاروهای میگو بوده و طی این کاهش هیچگونه عوارض پاتولوژیک ناشی از بیماری مشاهده نگردید. از جمع بندی این دو مقطع می‌توان چنین نتیجه گرفت که:

۱- جلبکها می‌توانند پربیوتیک (Prebiotic) مناسبی برای آبزی پروری میگو تا مرحله پست لاروی پنج محسوب گردند.

۲- در مراحل بالاتر از پست لاروی پنج برای خانواده ویبریوناسه جلبک تک سلولی نمی‌توانند بعنوان پربیوتیک مناسب قلمداد شود و باید دنبال پربیوتیک مناسب دیگری بود.

منابع

اینگلیس، و. ؛ روبرتس، ر. ج. و برومج، ن.ر. ، ۱۳۷۶. بیماریهای باکتریایی ماهی. ترجمه: مهدی سلطانی. چاپ اول، انتشارات سازمان دامپزشکی با موسسه نشر جهاد، تهران.

مجیدی نسب، ا. ، ۱۳۷۷. بیماریهای میگوهای پرورشی. انتشارات نوربخش، تهران.

Austin, B. ; Stucky, L.F. ; Robertson, P.A.W. and Effendi, D.R.W. , 1995. A Probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reduction diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillaria* and *Vibrio ordalii*, Journal of Fish Dis. Vol. 18, pp.93-96. *In*: "A review of the use of probiotics in aquaculture", Gatesoupe, F.J. , 1999. Aquaculture. Vol. 180, pp.147-165.

Berg, Q. , 1995. Bacteria associated with early life stages of halibuut, *Hippoglossus hippoglossus* L., inhibit growth of a pathogenic Vibrio sp. Journal of Fish Dis. Vol. 18, pp.31-40.

Bergey's Manual Systematic Bacteriology, 1989. Holt, J.G. (Editoring Chief), William &Wilking. Vol. 1, 527P.

Direkbusarakom, S. ; Yoshimizu, M. ; Ezura, Y. ; Ruangpan, L. and Danayadol, Y. , 1998. *Vibrio spp.*, the dominant flora in shrimp hatchery against some fish pathogenic viruses. Journal of Mar. Biotechnol. Vol. 6, pp.266-267.

Frankel, S. ; Reitman, S. ; Sonnenwirth, A.C. , 1970. Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis (Seventh edition). The C.V. Mosby Company.

Fukami, K. ; Nishijima, T. and Ishida, Y. , 1997. Stimulative and inhibitory effects of bacteria on the growth of micro algae. Hydrobiologia. Vol. 358, pp.185-191.

Gatesoupe, F.J. , 1999. The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture, Vol. 180, pp.147-165.

Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. , 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics, *In*: Y. K. ; K. Lee ; K. Nomoto ; S. Salmnen and S.L. Gorbach, 1999. Handbook of probiotics . Journal of Nutr. John Wiley & Sons, Inc,Canada Vol. 125, pp.1401-1412.

Griffith, D.R.W. , 1995. Microbiology and the role of probiotics in Ecuadorian shrimp hatcheries. *In*: Levans, P.; Jaspers, E. and Roelants, I. (eds.). larvi 95– Fish and Shellfish Larviculture

magiran.com

Symposium. European Aquaculture Society, Special Publication, Gent, Belgium. Vol 24, 479P.

Holt, J.G. ; Staley, J.T. ; Bryanh, Pfening, N. , 1989. Bergey's Manual of Bacteriology. William & Wilking, Vol. 1, 527P.

Lavens, P. and Sorgeloos, P. , 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. Artemia Reference Center, FAO. 296P.

Lee, Y.K. ; Nomoto, K. ; Salmnen, S. and Gorbach, S.L. , 1999. Handbook of probiotics. John Wiley & Sons, Inc,Canada. 211P.

Nair, S. ; Tsukamoto, K. and Shimidu, U. , 1985. Distribution of bacteriolytic bacteria in the coastal marine environment of Japan. Bull. Japon. Soc. Sci. Fish. Vol. 51, pp.1469-1473.

Nash, G.L. , 1990. *Penaeus monodon* grow out disease (in Malaysia), Ed by New, M.B. ; Sarsam, H.D. and Singh, T.) Technical and economic aspects of shrimp farming. pp.172-182.

Palanisamy , V. ; Latif , F.A. and Resat, R.B.M. , 1991. A guide on the production of algal culture for use in shrimp hatcheries. Department of Fisheries Ministery of Agricultue, Malaysia, pp.1-23.

Rengpipat, S. ; Phianphak, W. ; Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P. , 1998. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture, Vol. 167, pp.301-313.

Riquelme, C. ; Hayashida, G. ; Araya, R. ; Uchida, A. ; Satomi, M. and Ishida, Y. , 1996. Isolation of a native bacterial strain from the scallop Argopecten purpuratus with inhibitory effects against pathogenic vibrios. Journal of Shellfish Res. Vol. 15, pp.369-374.

Ruangpan, L. ; Naanan, P. and Direkbusarakom, S. , 1998. Inhibitory effect of *Vibrio alginolyticus* on the growth of *V. harveyi*. Fish Pathol. Vol. 33, pp.293-296. *In*: "Review the use of probiotics in aquqculture", Aquaculture. Vol. 180, pp.147-165.

Schroder, M.J. ; Espelid, S. and Jqrgensen, T.O. , 1993. Two serotypes of *Vibrio salmonicida* isolated from diseased cod (*Gadus morhua*): Virulence, immunological studies and vaccination experiment. In press.

Sindermann, C.J. and Lightner, D.V. , 1988. Disease diagnosis and control in North American marine aquaculture. Elsevier Science Publishers, secound edition, Vol. 8, pp.179, 318-323.

Star, M.P. ; Stolp, H. ; Truper, H.G. ; Balows, A. and Schlegel, H.G. , 1989. The Prokaryotes. A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. Springer-Verlag, USA. 1022P.

Sugita, H. ; Matsuo, N. ; Shibuya, K. and Deguchi, Y. , 1996a. Production of antibacterial substances by intestinal bacteria isolated from coastal crab and fish species. Journal of Mar. Biotechnol. Vol. 4, pp.220-223.

Suminto and Hirayama, K. , 1997. Application of a growth–promoting bacteria for stable mass culture of three marine microalgae. Hydrobiologia. Vol. 358, pp.223–230.

magiran.com

An investigation on Vibrionaceae family of bacteria as Probiotic factors in shrimp culture

Hassannia M.R.[1]* : Aziz Mohseni F.[2] ; Yeganeh V.[3] and Ganjour S.[4]

Hassannia_mr@yahoo.com

1- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

2- Persian Type Culture Collection (PTCC), P.O.Box: 37575-111 Tehran, Iran

3,4- Shrimp Research Center, P.O.Box: 1374 Bushehr, Iran

Received: July 2005 Accepted: October 2006

Keyword: *Vibrionaceae,* Shrimp, Algae, Probiotic Factors

Abstract

We investigated the effects of *Vibrionaceae* family of bacteria as probiotics in the process of growth and survival rate of shrimp during propagation stages. Bacterial flora were extracted from seawater, culture farms, shrimp culture farms and sludge of private propagation farms. Different bacteria such as *Vibrio alginolyticus* (serotype 1-4), *Vibrio splendidus* I, *Vibrio fluvialis* II, *Vibrio anguillarum* I, *Vibrio costicul, Vibrio vulnificus, Vibrio nereis, Vibrio camplbelli, Vibrio natriegens, Vibrio proteolyticus, Vibrio plegius* II ,*Vibrio fischeri, Aeromonas hydrophila, Aeromonas schuberti, Aeromonas salmonisida, Aeromonas veronii* were isolated, identified and lyophilized. These bacteria were used in different experiments on shrimp life cycle stages while the shrimps were being fed on live food such as *Chaetoceros*, *Skeletonema* and *Tetraselmis* algae. *Vibrio alginolyticus* (serotype l) with 107 cells/ml increased proliferation of *Tetraselmis sp* to 71 % in 6 days compared to the control experiment. Also *Vibrio alginolyticus* (serotype 4) with l05 cells/ml increased *Tetraselmis sp.* production to 389% in 6 days compared to control. *Vibrio splendidus* I was also found to be able to increase shrimp fork length in postlarvae stage 3 up to 23% as compared to control. *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio fischeri* increased survival, fork lenght and body weight of green tiger shrimp in postlarvae stage significantly ($P<0.05$).

* Corresponding author