علوم و فنون شیلات

فصلنامه علمی ـ پژوهشی

دورهٔ ۳، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۳، صفحه ۴۴-۳۳

اثر پروبیوتیک‌های باسیلی بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت پست‌لارو میگوی پا سفید غربی، *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) در برابر عوامل تنش‌زای محیطی

داریوش عبداللهی آرپناهی*[۱]، حجت‌الله جعفریان[۲]، مهدی سلطانی[۳]، حسنی قلی‌پور کنعانی[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات و جنگل، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبدکاووس

۲- دانشیار، گروه شیلات و جنگل، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبدکاووس

۳- استاد، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران

۴- استادیار، گروه شیلات و جنگل، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبدکاووس

دریافت: ۹۲/۶/۱ پذیرش: ۹۲/۱۰/۱۷

* نویسنده مسئول مقاله: dabdollahi8@gmail.com

چکیده:

تأثیر دو پروبیوتیک وارداتی و بومی بر عوامل رشد، تغذیه، بقا و مقاومت نسبت به آزمایش‌های تنش‌زا در پست‌لارو میگوی پا سفید (*Litopenaeus vannamei*) با میانگین وزنی ۶/۵۴±۵۰ میلی‌گرم بررسی شد. پست‌لارو میگو در ۴ تیمار آزمایشی به‌ترتیب، با جیره‌های مکمل شده با باکتری‌های پروبیوتیکی وارداتی، بومی- وارداتی (با نسبت برابر)، بومی با غلظت یکسان $1/5\times10^{6}$ (واحد کلنی در گرم غذا) و جیره بدون مکمل (گروه شاهد) به مدت ۶۰ روز تغذیه و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی بررسی شدند. تغذیه سه بار در روز به میزان ۷ درصد توده زنده انجام شد. پست‌لارو تغذیه شده با غذای حاوی پروبیوتیک عملکرد بهتری در وزن و طول نهایی، ضریب تبدیل غذایی، بازماندگی و مقاومت در برابر شرایط تنش‌زا در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد ($p<0/05$)، و بهترین عملکرد در پروبیوتیک وارداتی مشاهده گردید. نتایج این آزمایش نشان داد که جیره‌های مکمل شده با هر دو نوع پروبیوتیک، به‌ویژه پروبیوتیک وارداتی می‌تواند رشد و بقای میگوی پا سفید غربی را بهبود بخشد و همچنین باعث افزایش تحمل میگو در برابر شرایط استرس شود.

کلید واژگان: پروبیوتیک، میگوی وانامی، مکمل‌سازی، استرس، رشد.

مقدمه

میگوی پا سفید غربی متعلق به سواحل غربی آمریکای لاتین از پرو در جنوب تا مکزیک در شمال است؛ یعنی جایی که دمای آب در تمام طول سال بیش از ۲۰ درجه سانتی‌گراد است. این گونه با توجه به خصوصیاتی مانند تحمل طیف گسترده‌ای از شرایط پرورشی، تحمل تراکم‌های بالا، سهولت در به‌گزینی، نیاز کم‌تر به پروتئین حیوانی در تغذیه نسبت به سایر گونه‌ها (Briggs et al., 2004) و مقاومت نسبت به بیماری‌ها (Bray et al., 1994) و رشد سریع، مدت‌ها به‌عنوان مهم‌ترین گونه پرورشی در قاره آمریکا محسوب می‌شود، به نحوی که در سال ۲۰۰۸، ۶۷ درصد از تولیدات جهانی میگوهای پرورشی پنائید (۳,۳۹۹,۱۰۵ میلیون تن) را این میگو (۲,۲۵۹,۱۸۳ میلیون تن) به خود اختصاص داد (Liao and Chien, 2011).

پیامدهای منفی بالقوه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری، مانند توسعه باکتری‌های مقاوم در برابر دارو و کاهش اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌ها برای بیماری‌های انسان و حیوان، منجر به پیشنهاد استفاده از باکتری‌های غیر بیماری‌زا به‌عنوان پروبیوتیک و عوامل کنترل‌کننده شده است (Vaseeharan and Ramasamy, 2003). پروبیوتیک به مکمل‌های میکروبی زنده‌ای اطلاق می‌شود که از طریق تغییر جمعیت میکروبی محیط یا میزبان و رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا، اثرهای سودمندی را روی میزبان می‌گذارد. دستکاری جمعیت میکروبی روده لاروهای آبزیان با استفاده از باکتری‌های انتخابی برای بهینه‌سازی آن‌ها به‌منظور رشد و بازماندگی بهتر، از جنبه‌های مهم استفاده از پروبیوتیک‌هاست (Ringo and Birkbeck, 1999).

درخصوص کاربرد پروبیوتیک‌ها در آبزی‌پروری مطالعات زیادی در سطح دنیا انجام شده است (Kumar et al., 2013; Lara-Flores et al., 2003). در مطالعه‌ای که Seenivasan و همکاران (۲۰۱۲) در این باره انجام دادند، پروبیوتیک *Bacillus subtilis* تأثیرهای مثبتی را بر رشد، بقا، ترکیبات بیوشیمیایی و بهره‌برداری از انرژی در میگوی دراز آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) بر جای گذاشته است. در همین زمینه نیز Kumar و همکاران (۲۰۱۳) اثر جیره‌های مکمل شده با *B. licheniformis* را بر فلور میکروبی، رشد و پاسخ‌های ایمنی در میگوی دراز آب شیرین بررسی و گزارش کردند که عملکرد رشد در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است. در تحقیق دیگری Ziaei-Nejad و همکاران (۲۰۰۶) از باسیلوس‌های پروبیوتیکی تجاری بر روی فعالیت آنزیم‌های هضمی، رشد و بقای میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) استفاده کردند. Carnevali و همکاران (۲۰۰۴) نیز در مطالعه‌ای از باکتری لاکتوباسیلوس فروکتیورانس (*Lactobacillus fructivorans*) ایزوله شده از ماهی شانک و نیز *L. plantarum* ایزوله شده از مدفوع انسان، پس از غنی‌سازی با ناپلی آرتمیا فرانسیسکانا در تغذیه این ماهی استفاده کردند که در نتیجه این آزمایش رشد و بقای ماهی افزایش یافت.

Jafarian و همکاران (۲۰۱۱)، در پژوهشی اثر جیره‌های آزمایشی حاوی مخلوط‌های پروبیوتیکی را در سه گروه (لاکتوباسیلوس‌ها، باسیلوس‌ها و باکتری‌های بومی جداسازی شده از روده ماهیان خاویاری) و هر یک در سه سطح به غذای قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) اضافه کردند. آن‌ها بیان نمودند که سطوح مقاومت لاروها در مقابله با استرس‌های محیطی،

تقریباً در تمامی تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر زیست‌یارها بیش‌تر از شاهد بودند.

دربارهٔ تأثیر باکتری‌های باسیلوس تجاری و بومی به‌عنوان پروبیوتیک روی میگوی پا سفید غربی در کشور گزارش‌های علمی کمی ارائه شده است. نتایج این تحقیق بدون تردید به افزایش تولید و کاهش استفاده از مواد شیمیایی و داروها در آبزی‌پروری به‌خصوص در بخش میگو کمک شایانی خواهد کرد. بنابراین در مطالعه حاضر سعی شده است با هدف ارزیابی اثر باسیلوس‌های تجاری و بومی از طریق مکمل‌سازی جیره، به نقش آن در بهبود عملکرد رشد، نرخ بقا و میزان مقاومت در برابر استرس‌های محیطی پست‌لارو میگوی پا سفید غربی پرداخته شود.

مواد و روشها

آماده‌سازی غلظت‌های باکتریایی

اسپور باسیلوس‌های پروبیوتیک تجاری مورد استفاده در این آزمایش از شرکت پروتکسین آکواتک[1] تهیه شد. این محصول تجاری به‌صورت سوسپانسیون باکتریایی (مخلوط دو باکتری *B. subtilis*, *B. licheniformis*) با غلظت 1×10^{10} اسپور در هر میلی‌لیتر بود.

از سوسپانسیون مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی با استفاده از دستورالعمل شرکت پروتکسین، غلظت $1/5\times10^{6}$ اسپور در هر میلی‌لیتر برداشته شد و جهت فعال‌سازی به مدت ۸ ساعت انکوبه شد. اسپور روی محیط کشت ژلاتینه TSA[2] کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ °C انکوباسیون شدند تا کلنی‌ها ظاهر شود (Gomez- Gil et al., 1998) . کلنی‌های مربوط به محیط کشت جدید TSA انتقال داده شد و به‌صورت خطی برای خالص‌سازی و رقیق‌سازی کشت داده شدند.

برای آماده‌سازی پروبیوتیک‌های بومی مستخرج از دستگاه گوارش بچه ماهیان انگشت قد فیل ماهی (*Huso huso*)، ابتدا سوسپانسیون هر دو باکتری *B. licheniformis* و *B. subtilis* که به‌صورت پودری و لیوفیلیزه[3] بود، در آب مقطر استریل حل شد. سپس روی محیط کشت ژلاتینه TSA کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. پس از آن، از کلنی‌های کشت داده شده با آنس استریل از روی سطوح محیط کشت جمع‌آوری و در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد منتقل شد و بادستگاه شیکر به‌صورت هموژن و سوسپانسیون باکتریایی در آمد. پس از آن با استفاده از محلول نیمه مک فارلند و اسپکتروفتومتر (مدل Libra S22 Biochrom)، بر اساس تعیین غلظت نوری (OD)[4] میزان غلظت‌های مورد نظر بر مبنای CFU/mL با تعیین جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین شدند (Zokaeifar et al., 2012). برای تهیه دوز پروبیوتیک تجاری- بومی (با نسبت برابر از هر کدام) نیز به همین طریق عمل گردید. در نهایت دوز باکتریایی مورد نظر ($1/5\times10^{6}$) را که برای سه تیمار آزمایشی یکسان بود از طریق اسپری کردن به سطح غذای میگو اضافه شد. به جیره تیمار شاهد هیچ نوع مکمل پروبیوتیکی اضافه نشد.

۱. Protexin Aquatech. UK.

۲. Trypticase soy agar

۳. Lyophilized

۴. Optimal density

تیمارهای آزمایشی

تغذیه به‌صورت روزانه، در ۳ نوبت و به میزان ۷ درصد وزن بدن صورت گرفت. جیره‌های حاوی محرک‌های ایمنی تا زمان غذادهی بعدی در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. همچنین در زمان غذادهی، گردش آب در تانک برای مدت ۲ ساعت قطع گردید تا میگوها بتوانند بدون مزاحمت تغذیه کنند. ۶۰۰ قطعه بچه میگوی پا سفید غربی با میانگین وزنی ۶/۵۴±۵۰ میلی‌گرم (PL_{15})، از مرکز تکثیر و پرورش میگوی گمیشان تهیه و پس از طی دوره آداپتاسیون و زیست سنجی اولیه، به مخازن رهاسازی شدند. برای انجام این آزمایش تعداد ۱۲ عدد حوضچه فایبرگلاس با حجم آبگیری ۵۰ لیتر انتخاب و برای هر یک از تیمارها، ۳ تکرار در نظر گرفته شد. لارو میگوها با تراکم ۵۰ قطعه در هر حوضچه (Briggs et al., 2004) و با ۲۰ درصد تعویض آب روزانه، هوادهی ثابت و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، برای مدت ۶۰ روز در همان مرکز نگهداری شدند.

شاخص‌های رشد و تغذیه

برای بررسی وضعیت رشد میگوها و به‌دست آوردن بیوماس لاروهای میگو به‌منظور محاسبه غذای روزانه در طول دوره آزمایش، هر ۱۰ روز یک‌بار به‌طور تصادفی از هر حوضچه نمونه‌برداری و میانگین طول و وزن آن‌ها با استفاده از کولیس با دقت یک میلی‌متر و ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری و ثبت شد. در انتهای دوره تمامی میگوها بیومتری شدند. در طول دوره آزمایش فاکتورهای کیفی آب محیط پرورشی پست‌لاروهای میگوی سفید غربی نظیر دما، pH و شوری هر دو روز یک بار اندازه‌گیری شد. در کل دوره آزمایش، میزان دمای آب ۳۲-۲۸ درجه سانتی‌گراد ، میزان شوری ۴۲-۳۸ قسمت در هزار و pH آب ۸/۵-۸/۳ در نوسان بود.

بر اساس داده‌های به‌دست آمده در انتهای دوره آزمایش، برخی از عوامل رشد و تغذیه نظیر نرخ رشد ویژه ($SGR^{۵}$)، ضریب رشد حرارتی($TGC^{۶}$)، نرخ وزن نسبی به‌دست آمده ($RGR^{۷}$)، ضریب تبدیل غذایی($FCR^{۸}$)، ضریب رشد روزانه ($DGC^{۹}$) و بقا (Ziaei-Nejad et al., 2006) محاسبه شدند.

جیره پایه‌ای به‌کار گرفته شده، از شرکت هوورراش بوشهر تهیه شد. تجزیه تقریبی غذا در جدول ۱ نشان داده شده است.

۵. Specific Growth Rate

۶. Thermal growth coefficient

۷. Relative Gain Rate

۸. Feed Conversion Ratio

۹. Daily growth coefficient

جدول ۱ تجزیه تقریبی غذای مورد استفاده در پروش پست‌لاروهای میگو در طول دوره پرورش (بر اساس ماده خشک)

پروتئین خام (درصد)	چربی خام (درصد)	انرژی ناخالص (کالری بر گرم)	ماده خشک
۳۸±۱/۱۹	۹±۹۲	۴۵۲۳±۲۵/۳۲	۹۰±۱/۵۴

آزمون استرس

برای بررسی میزان مقاومت پست‌لاروهای میگوی پا سفید غربی تحت تأثیر باسیلوس‌های پروبیوتیکی، از آزمایش‌های استرس استفاده شد، زیرا یکی از روش‌های مناسب برای ارزیابی کیفیت و مقاومت پست‌لارو میگوهای خانواده پنائیده استفاده از تنش‌های محیطی است. بنابراین پس از اتمام دوره‌ی غذادهی برای بررسی اثرهای پروبیوتیک‌ها بر مقاومت پست‌لاروها در شرایط نامساعد محیطی، ۹ محیط استرس‌زا برای دادن شوک به آن‌ها آماده شد که شامل شوک کلر (۲۰۰ ppm)، شوک فرمالین (۵ ppm)، شوک قلیایی (pH=۱۰)، شوک اسیدی (pH=۱)، شوک شوری (۵ ppt و ۱۰۰)، شوک دما (۸ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد) و شوک آمونیاک (۵mg/l) بود (Jafaryan et al., 2011; Najmi et al., 2011). محدوده و غلظت هر کدام از عوامل استرس‌زا برای مدت زمان مورد نظر (میانگین زمان مقاومت لاروها) مشخص شد. بدین صورت که پیش از شروع آزمایش، تعداد ۵ قطعه میگو از هر تکرار برای تعیین غلظت مورد نیاز در این مدت زمان، در آزمایش‌های مختلف بررسی شد. پس از مشخص کردن این مقادیر، لاروهای موجود در هر تکرار به‌طور مجزا در تشت‌های کوچک پلاستیکی که شامل محیط استرس‌زا بود، قرار گرفتند و مدت زمان زنده‌مانی آخرین لارو موجود در تانک به‌عنوان میزان مقاومت لاروها در آن مشخص شد. میزان زنده‌مانی لاروها در این مطالعه بر حسب دقیقه تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده در خصوص عوامل رشد، تغذیه و آزمون استرس با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16 و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام پذیرفت.

نتایج

شاخص‌های رشد و تغذیه میگوی پا سفید غربی در جدول ۲ ارائه شده است. در این آزمایش باسیلوس‌های پروبیوتیکی توانستند اختلاف معناداری در خصوص معیارهای رشد و تغذیه پست‌لارو میگوی پا سفید غربی در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد از خود نشان دهند (p<۰/۰۵). استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی موجب ایجاد اختلاف معناداری در وزن، طول به‌دست آمده و نرخ رشد ویژه شدند (p<۰/۰۵). بیش‌ترین وزن (۱۱۰۱/۱۲ mg)، طول (۵۶/۴۶ mm) و نرخ رشد ویژه (۴/۷۸) میگوی پا سفید غربی در تیمار تغذیه شده با غذای مکمل شده با پروبیوتیک تجاری به‌دست آمد.

جدول ۲ شاخص‌های رشد و تغذیه لارو میگوی پا سفید غربی تغذیه شده با غذای مکمل شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی

تیمار / پارامتر	شاهد	پروبیوتیک تجاری	پروبیوتیک تجاری + بومی	پروبیوتیک بومی
وزن نهایی (میلی‌گرم)	۸۱۱/۶۲±۶۶/۶۹^{d}	۱۱۰۱/۱۲±۴۸/۱۳^{a}	۹۸۳/۷۱±۶۹/۹۴^{b}	۸۸۸/۰۶±۵۷/۷۲^{c}
طول نهایی (میلی‌متر)	۵۰/۲۸±۵/۵۷^{d}	۵۶/۴۶±۶/۳۶^{a}	۵۴/۱۵±۵/۰۲^{b}	۵۲/۳۰±۵/۴۹^{c}
نرخ رشد ویژه (درصد وزن بدن در روز)	۴/۳۶±۰/۳۲^{c}	۴/۷۸±۰/۴۸^{a}	۴/۶۳±۰/۳۹^{b}	۴/۴۷±۰/۴۴^{c}
ضریب تبدیل غذایی (درصد)	۲/۲۹±۰/۵۱^{a}	۱/۷۸±۰/۵۶^{c}	۱/۹۳±۰/۴۸^{b}	۲/۱۷±۰/۶۲^{a}
ضریب رشد حرارتی (درصد)	۰/۳۴±۰/۰۴^{d}	۰/۳۹±۰/۰۶^{a}	۰/۳۷±۰/۰۵^{b}	۰/۳۵±۰/۰۵^{c}
نرخ وزن نسبی به‌دست آمده (درصد)	۱۶۳۴/۳±۱۵۶/۲^{d}	۲۲۵۲/۸±۱۴۳/۹^{a}	۲۰۰۱/۹±۱۷۶/۸^{b}	۱۷۹۷/۶±۱۵۰/۷^{c}
کارایی رشد روزانه (درصد)	۰/۵۹±۰/۱۱^{d}	۱/۱۰±۰/۱۸^{a}	۱/۰۴±۰/۱۴^{b}	۰/۹۹±۰/۱۵^{c}
بقا (درصد)	۷۲±۳/۲۵^{d}	۸۳/۵±۲/۴۵^{a}	۸۰±۳^{b}	۷۷±۲/۵۰^{c}

حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشانه تفاوت معنادار است (p<۰/۰۵).

۱ـ نرخ رشد ویژه = ۱۰۰ ×[دوره پرورش (روز)/ لگاریتم طبیعی وزن اولیه میگو – لگاریتم طبیعی وزن نهایی میگو]

۲- ضریب تبدیل غذایی= وزن به‌دست آمده(گرم) / غذای خورده شده(گرم)

۳- ضریب رشد حرارتی= ۱۰۰ × [(مجموع میانگین درجه حرارت‌های روزانه / $^{۰/۳۳۳}$(گرم وزن توده زنده اولیه میگو) –$^{۰/۳۳۳}$ (گرم وزن توده زنده ثانویه میگو)]

۴- نرخ وزن نسبی به‌دست آمده = ۱۰۰ × [گرم وزن اولیه میگو / (گرم وزن نهایی میگو – گرم وزن نهایی میگو)]

۵- کارایی رشد روزانه = ۱۰۰ × [دوره پرورش (روز)/ $^{۰/۳۳۳}$(گرم وزن اولیه میگو) –$^{۰/۳۳۳}$ (گرم وزن نهایی میگو)]

۶- بقا = ۱۰۰ [×تعداد کل لاروها در ابتدای آزمایش / (تعداد ماهیان تلف شده در انتهای آزمایش – تعداد کل لاروها در ابتدای آزمایش)]

از جمله عوامل مهم رشد، معیار ضریب رشد حرارتی است که در این آزمایش در تیمارهای آزمایشی و به‌خصوص تیمار پروبیوتیک تجاری (۰/۳۹) از سطح بالاتری نسبت به گروه شاهد برخوردار است (p<۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده در خصوص معیار کارایی رشد روزانه میگوی پا سفید غربی در تیمار پروبیوتیک تجاری اختلاف معناداری را با دیگر تیمارها نشان داد (p<۰/۰۵). همچنین ضریب تبدیل غذایی با به‌کارگیری باسیلوس‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در این آزمایش به‌طور قابل توجهی کاهش یافت و اختلاف معناداری با گروه شاهد نشان داد (p<۰/۰۵).

مقاومت میگوهای پا سفید غربی در برابر شرایط استرسی در جدول ۳ نشان داده شده است. استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی نقش مؤثری در افزایش مقاومت میگوها در برابر شرایط استرسی دارند. به‌طوری که میگوهای تغذیه شده با غذای مکمل شده با پروبیوتیک توانستند به‌طور معناداری در برابر استرس‌های محیطی نسبت به گروه شاهد مقاومت کنند (p<۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده نشان داد که پروبیوتیک‌های مصرفی در این

مطالعه سبب افزایش معناداری در زنده‌مانی میگوها در محیط اسیدی و بازی استرس‌زا شده است. بیش‌ترین زمان زنده‌مانی میگوها در تیمار پروبیوتیک تجاری در محیط اسیدی (۱۸/۶۹ دقیقه) و در محیط بازی (۱۴۴/۳۷ دقیقه) مشاهده شد در حالی‌که کم‌ترین زمان زنده‌مانی در تیمار شاهد (۱۰/۳۶ و ۸۷/۱۱ دقیقه) به‌دست آمد (p<۰/۰۵). مشاهدات مربوط به نتایج حاصل از زنده‌مانی و مقاومت لاروها در مقابله با استرس شوری، دما و آمونیاک نشان داد که باسیلوس‌های پروبیوتیکی مصرفی در این آزمایش سبب بهبود در زمان زنده‌مانی لاروها به‌طور معناداری شده است (p<۰/۰۵) بیش‌ترین زمان زنده‌مانی در برابر فرمالین و کلر در تیمار پروبیوتیک تجاری به‌ترتیب (۳۱/۳۶ و ۵۷/۴۸ دقیقه) و کم‌ترین زمان زنده‌مانی در تیمار شاهد (۱۸/۸۶ و ۳۸/۳۰ دقیقه) مشاهده شد.

جدول ۳ ارزیابی زمان زنده‌مانی لارو میگوی پا سفید غربی تغذیه شده با غذای مکمل شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی در برابر شرایط استرس‌زا (بر حسب دقیقه)

تیمار / شرایط استرسی	شاهد	پروبیوتیک تجاری	پروبیوتیک تجاری + بومی	پروبیوتیک بومی
کلر(۲۰۰ ppm)	۳۸/۳۰±۴/۲۲^{c}	۵۷/۴۸±۴/۲۸^{a}	۵۲/۲۱±۲/۴۵^{ab}	۴۴/۰۵±۱/۴۲^{bc}
فرمالین(۵ ppm)	۱۸/۸۶±۱/۶۳^{d}	۳۱/۳۶±۱/۱۸^{a}	۲۷/۹۲±۱/۳۳^{b}	۲۴/۳۹±۱/۵۲^{c}
pH بازی (pH = ۱۰)	۸۷/۱۱±۴/۸۵^{d}	۱۴۴/۳۷±۸/۷۰^{a}	۱۲۵/۹۴±۱۵/۳۲^{b}	۱۱۱/۰۴±۱۶/۵۲^{c}
pH اسیدی (pH = ۱)	۱۰/۳۶±۰/۴۵^{c}	۱۸/۶۹±۰/۹۸^{a}	۱۵/۹۲±۰/۵۰^{b}	۱۳/۶۱±۰/۶۸^{b}
شوری (۵ ppt)	۹۶/۵۰±۹/۸۵^{c}	۱۹۸/۱۴±۱۶/۴۸^{a}	۱۵۴/۶۷±۷/۹۳^{b}	۱۴۳/۸۱±۱۲/۷۰^{b}
شوری (۱۰۰ ppt)	۷۲/۵۷±۱۱/۴۸^{c}	۱۴۲/۷۰±۱۰/۷۱^{a}	۱۲۰/۰۲±۴/۶۶^{ab}	۱۰۸/۰۵±۴/۱۸^{b}
آمونیاک (۵ mg/l)	۶/۱۴±۱/۱۹^{c}	۱۲/۵۳±۱/۰۴^{a}	۱۱/۵۴±۱/۲۶^{ab}	۸/۹۴±۱/۰۶^{b}
دما (۸ °C)	۱۰/۷۸±۱/۴۹^{c}	۱۹/۹۵±۱/۹۵^{a}	۱۷/۰۵±۱/۱۵^{b}	۱۵/۲۸±۰/۶۷^{b}
دما (۴۰ °C)	۲/۰۳±۰/۴۳^{c}	۵/۴۷±۰/۷۶^{a}	۵/۲۶±۰/۳۷^{ab}	۳/۲۲±۰/۶۳^{bc}

حروف لاتین غیرمشترک در هر ردیف نشانه اختلاف معنادار است (p<۰/۰۵).

بحث

در تحقیق حاضر که برای بررسی عوامل رشد، بازماندگی و مقاومت میگوی پا سفید غربی در نتیجه افزودن پروبیوتیک به جیره پست‌لاروی آن انجام شد، نتایج آزمایش نشان داد که استفاده از محصول تجاری پروبیوتیک پروتکسین و باسیلوس‌های زیست یار بومی باعث شد در تیمارهای آزمایشی اختلاف مثبت معناداری را از نظر بازماندگی و مقاومت پست‌لارو میگو نسبت به شاهد نشان دهد (p<۰/۰۵). با توجه به یافته‌های حاصل از این تحقیق، پروبیوتیک توانسته تأثیر قابل توجهی را در نرخ رشد و بازماندگی کل ایجاد کند که این می‌تواند به‌دلیل عملکردهای مختلف پروبیوتیک در بدن میگو از جمله دخالت در عمل هضم به‌وسیله تولید آنزیم‌های خارج سلولی (مثل پروتئاز، لیپاز و کربوهیدرولاز) (Arellano and Olmos, 2002)، تولید ویتامین‌ها و تجزیه ترکیبات غیرقابل هضم (Irianto and Austin, 2002)، تولید ترکیبات ضد باکتریایی (Verschuere et al., 2000) و کاهش سوبسترای موجود برای سایر جمعیت‌های باکتریایی (Fooks and Gibson, 2002) باشد.

مطالعات پیشین، اختلافات درون و بین گونه‌ای پروبیوتیک‌های مختلف را در توانایی تحریک ایمنی بدن ثابت کرده است. این نوع اختلافات به‌وسیله پاسخ در ایمنی ذاتی سلول‌های تحریک کننده تحت شرایط invitro و invivo میان پروبیوتیک‌های گروه *B. subtillis,* *Lactobacillus delbruekii* گزارش شده است (Eshaghzade and Moudi, 2011). علاوه بر اختلافات ذکر شده، پروبیوتیک‌ها از نظر بومی یا غیربومی بودن برای میزبان (Carnevali et al., 2004)، تک گونه‌ای یا چند گونه‌ای بودن، تولید یا عدم تولید اسپور و زنده یا غیرزنده بودن نیز تفاوت قابل توجهی در تحریک سیستم ایمنی میزبان ایجاد می‌کنند (Eshaghzade and Moudi, 2011).

از نظر بازماندگی همان گونه که در بخش نتایج مشاهده شد، این پروبیوتیک توانسته تأثیر قابل توجهی بر بازماندگی میگوها در مراحل مختلف رشد داشته باشد. شاید بتوان یکی از دلایل افزایش بازماندگی را از بین رفتن سایر باکتری‌ها به‌ویژه باکتری‌های مضر به‌وسیله باکتری‌های باسیلوس و یا رقابت این باکتری‌ها با دیگر باکتری‌ها و در نهایت تشکیل فلور غالب باکتریایی دانست. Zhang و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که کاهش معنادار در مرگ و میر تجمعی ممکن است به‌دلیل افزایش در دفاع ایمنی هومورال و سلولی به‌وسیله باکتری‌های پروبیوتیکی باشد. در تأیید یافته‌های این تحقیق، نتایج مشابهی از سوی Ziaei-Nejad و همکاران (۲۰۰۶) با استفاده از آرتمیا فرانسیسکانای غنی‌سازی شده با باسیلوس‌های پروبیوتیکی تجاری به‌منظور رشد و بقا در پرورش میگوی سفید هندی به‌دست آمد. همچنین در مطالعه‌ای که Rengpipat و همکاران (۱۹۹۸) انجام دادند باسیلوس‌های پروبیوتیکی (*Bacillus* S11) به‌خوبی توانستند رشد میگوی ببری سیاه (*P. monodon*) را افزایش دهند به گونه‌ای که وزن نهایی این میگوها از ۴ گرم به ۷/۰۶ گرم افزایش یافته است. مطابق با نتایج حاضر، Kongnum و Hongpattarakere (۲۰۱۲)، برای بهبود رشد و بقای میگوی پا سفید، از *L. plantarum* ایزوله شده از دستگاه گوارش میگوهای وحشی استفاده کردند، پس از ۶ هفته غذادهی جیره‌های مکمل شده با *L. plantarum* از درصد نرخ رشد نسبی، ضریب تبدیل غذایی و بقای معناداری نسبت به شاهد برخوردار بودند ($p<0/05$). در این باره Rengpipat و همکاران (۱۹۹۸) و Ziaei-Nejad و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش‌های مشابهی در بهبود نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی به‌ترتیب در میگوهای *P. monodon* و *P. indicus* زمانی‌که از جیره‌های مکمل شده با باسیلوس تغذیه کردند، ارائه دادند. این نتایج در مغایرت با یافته‌های Rahiman و همکاران (۲۰۱۲) است. آن‌ها گزارش کردند که افزایش در وزن نهایی و نرخ رشد ویژه در میگوی *M. rosenbergii* تغذیه شده با جیره‌های مکمل شده با *Bacillus* NL110 بدون هر گونه افزایش معناداری در بقا بود.

لذا با توجه به تحقیقات صورت گرفته مشاهده می‌شود که پروبیوتیک‌ها به‌ویژه گروه‌های باسیلوس به روش‌های مختلفی می‌توانند بازماندگی و رشد را افزایش دهند. با وجود این، Shariff و همکاران (۲۰۰۱) بیان کرده‌اند هر چند بازماندگی میگوی *P. monodon* تغذیه شده با پروبیوتیک تجاری حاوی باسیلوس بیش‌تر از تیمار شاهد بوده، ولی این اختلاف معنادار نبوده است. به‌علاوه McIntosh و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که افزودن پروبیوتیکی که حاوی مخلوطی از گونه‌های باسیلوس است تأثیر معناداری بر بازماندگی، وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی ندارد. آن‌ها بیان داشته‌اند که دلیل معنادار نبودن این تفاوت‌ها این است که فلور میکروبی طبیعی موجود در

محیط میگوها برای تقویت رشد و بازماندگی آن‌ها کافی بوده است.

در آزمایش حاضر از نظر عوامل رشد، از جمله طول کل و وزن تر افزایش‌هایی در تیمارهای پروبیوتیکی نسبت به تیمار شاهد رخ داد. به‌نظر می‌رسد عاملی که می‌تواند دلیل این افزایش رشد باشد، افزایش فعالیت ویژه آنزیم‌های گوارشی در محوطه لوله گوارش میگوها بوده که سبب هضم و جذب بهتر غذا و افزایش کارایی تغذیه‌ای میگوها شده است.

از نظر مقاومت نیز نتایج تحقیق حاضر روشن ساخت که پروبیوتیک‌ها توانایی اثرگذاری مثبت بر بازماندگی و افزایش مقاومت لارو میگوی سفید غربی در مقابل محرک‌های استرس‌زای محیطی همچون شوری، فرمالین و غیره داشته و برحسب دوز مورد استفاده، این تأثیر متغیر است. پروبیوتیک‌ها از طریق سازوکارهای اکولوژیکی میکروبی و با ترشح برخی از ترکیبات بازدارنده نظیر آنتی‌بیوتیک‌ها، باکتری‌کش‌ها و پراکسید هیدروژن باعث می‌شوند رشد باکتری‌های مضر کم‌تر شده و بقای لارو آبزی را بالا ببرند (Verschuere et al., 2000). باکتری‌کش‌ها گروه‌های ناهمگنی از مواد ضد میکروبی هستند که به‌وسیله پروبیوتیک‌ها تولید شده و با تحریک سیستم ایمنی مقاومت لاروها را افزایش می‌دهند (Irianto and Austin, 2002).

شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد باکتری‌های پروبیوتیکی باعث افزایش مقاومت لارو آبزیان در برابر استرس‌های محیطی شده‌اند (Verschuere et al., 2000; Gatesoupe, 1991). این باکتری‌ها با تحریک سیستم ایمنی میزبان از طریق ترشح ترکیبات متابولیکی و افزایش فعالیت لیزوزیمی و ایمونوگلوبین، پاسخ‌های ایمنی آبزی را در مقابل محرک‌های محیطی افزایش می‌دهند (Irianto and Austin, 2002). با اندازه‌گیری مقاومت پست‌لاروها و میزان بازماندگی آن‌ها در مقابله با استرس‌های ایجاد شده، می‌توان تأثیر مواد غذایی تغذیه شده و در نهایت کیفیت پست‌لاروهای تولیدی را با استفاده از یک آزمایش سریع و ساده مشخص کرد. در واقع در این دسته آزمایش‌ها، وضعیت فیزیولوژیکی میگوها تعیین‌کننده شانس بازماندگی آن‌ها خواهد بود. با توجه به اینکه پست‌لاروهای میگوی پا سفید غربی ممکن است در معرض انوع شرایط و استرس‌های سخت محیطی قرار گیرند، بنابراین به‌کارگیری روش‌هایی که بتواند این نیاز مهم را تأمین کند از مهم‌ترین موارد قابل توجه محسوب می‌شود.

در این مطالعه همان‌گونه که بیان شد، استفاده از دوز باکتریایی $۱/۵\times۱۰^{۶}$ (CFU/g feed) در تیمارهای پروبیوتیکی موجب افزایش توان مقاومت پست‌لاروهای میگو در برابر تنش عوامل محیطی شده است که در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معناداری داشتند. در این باره Lara-Flores و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند که استفاده از پروبیوتیک‌ها (*Saccharomyces cerevisiae*, *Lactibacillus acidophilus* و *Streptococcus faecium*) در جیره غذایی تیلاپیای نیل (*Oreochromis noloticus*) موجب افزایش رشد و مقاومت نسبت به استرس‌های محیطی در تیمارهای پروبیوتیکی نسبت به شاهد شده است. همسو با نتایج این تحقیق نجمی و همکاران (۲۰۱۱) در آزمایشی نشان دادند که مقاومت میگوی پا سفید غربی در تیمار تغذیه شده با پروبیوتیک نسبت به آزمون استرس شوری ۱۰ppt و ۴۵ ppt و فرمالین ۱۰۰ppm اختلاف معناداری را با تیمار شاهد نشان داد. همچنین استفاده از دو سویه باکتری پروبیوتیکی در جیره غذایی بچه ماهی نورس شانک دریایی (*Sparus aurata*)، موجب کاهش معنادار

تلفات تجمعی بچه ماهیان در هنگام پاسخ بـه اسـترس pH شد (Rollo et al., 2006).

در مخالفت با نتایج حاضر جعفریان و همکـاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که در آزمون استرس شـوری (۴۰ ppt) هـیچ اختلاف معناداری بین تیمارهای آزمایشی حاوی پروبیوتیـک با شاهد در قزل‌آلای رنگین کمان مشاهده نشـد (p> ۰/۰۵)؛ در حالی‌که در آزمون مقابله با اسـترس حرارتـی (۳۳ درجـه سانتی‌گراد) نتایج معناداری به‌دست آمد. به‌طوری که کم‌ترین متوسـط زمـان بقـا در تیمـار شـاهد (۹/۳۹±۶۲/۶۷ ثانیـه) و بالاترین میزان زمان بقـای لاروهـا (۲۸/۲۹±۹۴/۳۳ ثانیـه) در تیمـار B_1 (تغذیـه شـده از جیـره‌هـای مکمـل شـده بـا باسیلوس‌های زیست‌یـار تجـاری) بـه‌دسـت آمـد و تفـاوت معناداری را با شاهد نشان داد (p< ۰/۰۵).

در تحقیق حاضر پروبیوتیک‌هـای بـه‌کـار رفتـه باعـث افزایش توانایی پست‌لاروهای میگـوی پـا سـفید غربـی در بهره‌برداری از غذای خورده شده شدند. به‌طوری که کاهش ضریب تبدیل غذایی، ارتقای کـارایی رشـد و نـرخ بقـا در لاروهای تغذیه شده با غذای مکمل شده بـا پروبیوتیـک‌هـا در مقایسه با گروه شـاهد کـاملاً نمایـان شـد. ایـن مطالعـه مشخص کرد که پروبیوتیک‌های باسیلی قابلیت تأثیرگذاری بالایی بـر ارتقـای عملکـرد رشـد، افـزایش شـاخص‌هـای تغذیه‌ای و مقاومت در برابر عوامل اسـترس‌زای محیطـی در میگوی پا سفید غربی در دورهٔ پرورش پست‌لاروی دارند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله برخود لازم مـی‌دانـیم از زحمـات بـی‌دریـغ آقایان مهنـدس مختـوم و مهنـدس کیـا و تمـام کارکنـان زحمـت کـش مرکـز آمـوزش و تـرویج و تکثیـر آبزیـان گمیشان که در اجرای ایـن تحقیـق مـا را یـاری نمودنـد، صمیمانه قدردانی کنیم.

منابع

Arellano, C. F. and Olmos, S. J. 2002. Thermostable a-1,4- and a-1,6- glucosidase enzymes from *Bacillus sp* isolated from a marine environment. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18: 791–795.

Bray, W. A., Lawrence, A. L. and Leung-Trujillo, J. R. 1994. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observation on the interaction of IHHN virus and salinity. *Aquaculture*, 122: 133-146.

Briggs, M., Funge-Smith, S., Subasinghe, R. and Phillips, M. 2004. Introduction and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the pacific. RAP publication, Bangkok. 79p.

Carnevali, O., Zamponi, M., Sulpizio, R., Rollo, A., Nardi, M., Orpianesi, C., Silvi, S., Caggiano, M., Polzonetti, A. and Cresci, A. 2004. Administration of probiotic strain to improve sea bream wellness during development. *Aquaculture International*, 12: 377-386.

Eshaghzade, H. and Moudi, S. 2011. Factors affecting the role of probiotics in immunomodulatory. Fisheries and Aquatic Sciences Conference, Islamic Azad University, Lahijan, 829 p. (Abstarct in English)

Fooks, L. J. and Gibson, G. R. 2002. Probiotics as modulators of the gut flora. *British Journal of Nutrition*, 88: 39-49.

Gatesoupe, F. J. 1991. *Bacillus sp.* Spores: A new tool against early bacterial infection in turbot larvae, *Scophthalmus maximus* ln: larvens, p., Jaspers, E., Roelands, I. (Eds), Larvi–fish and crustacean larviculture symposium. European Aquaculture Society, Gent, 409-411 pp.

Gomez- Gil, B., Herrera- Vega, M.A., Aberu-Grobis, F.A. and Roque, A. 1998. Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the Brine shrimp (*Artemia fransiscana*). *Applied Environmental microbiology*, 64: 2318-2322.

Irianto, A. and Austin, B. 2002. Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Disease*, 25: 633-642.

Jafaryan, H., soltani, M., Taati, M., Nazarpoor, A. and Morovat, R. 2011. The comparison of

Macrobrachium rosenbergii (de Man). *Aquaculture Research*, 41: 120-134.

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

Ringo, E. and Birkbeck, T. H. 1999. Intestinal microflora of fish and fry. *Aquaculture Research*, 30: 73-93.

Rollo, A., Sulpizio, R., Nardi, M., Silvi, S., Orpianesi, C., Caggiano, M., Cresci, A. and Carnevali, O. 2006. Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. *Fish Physiology and Biochemistry*, 32: 167-177.

Seenivasan, C., Radhakrishnan, S., Muralisankar, T. and Saravana Bhavan P. 2012. *Bacillus subtilis* on survival, growth, biochemical constituents and energy utilization of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post larvae. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38: 195-203.

Shariff, M., Yusoff, F. M., Devaraja, T. N. and Srinivasa-Rao S. P. 2001. The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius), ponds. *Aquaculture Research*, 32: 181-187.

Vaseeharan, B. and Ramasamy, P. 2003. Control of pathogenic Vibrio spp. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Letter in Applied Microbiology*, 36: 83-87.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P. and Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbilogy and Molecular Biology Reviews*, 64: 655-671.

Zhang, Q., Tan, B., Mai, K., Zhang, W., Ma, H., Ai, Q., Wang, X. and Liufu, Z. 2011. Dietary administration of *Bacillus* (*B. licheniformis and B. subtilis*) and isomaltooligosaccharide influences the intestinal microflora, immunological parameters and resistance against *Vibrio alginolyticus* in shrimp, *Penaeus japonicus* (Decapoda: Penaeidae). *Aquaculture Research*, 42: 943-952.

Ziaei-Nejad, S., Habibi Rezaei, M., Azari Takami, G., Lovett, D. L., Mirvaghefi, A. R. and Shakouri, M. 2006. The effect of Bacillus spp. performance of isolated sturgeon gut *Bacillus* (*Acipenser persicus and Huso huso*) with commercial microbial products on growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus Mykis*) larvae. *Journal of Veterinary Research*, 66: 39-46. (Abstarct in English)

Kongnum, K. and Hongpattarakere, T. 2012. Effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with Vibrio harveyi. *Fish & Shellfish Immunology*, 32: 170-177.

Kumar, N. R., Raman, R. P., Jadhao, S. B., Kumar Brahmchari. R. and Kumar, K. and Dash. G. 2013. Effect of dietary supplementation of *Bacillus licheniformis* on gut microbiota, growth and immune response in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). *Aquaculture International*, 21: 387-403.

Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M. A., Guzman-Méndez, B. E. and Lopez-Madrid, W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216: 193-201.

Liao, I. C. and Chien, Y. H. 2011. The Pacific White Shrimp, Litopenaeus vannamei, in Asia: The World's Most Widely Cultured Alien Crustacean. *Invasion Ecology*, 6: 489-519.

McIntosh, D., Samocha, T. M., Jones, E. R., Lawrence, A. L., Mckee, D. A., Horowitz, S. and Horowitz, A. 2000. The effect of a commercial bacterial suplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water axchang. *Aquaculture Engineering*, 21: 215-227.

Najmi, N., Yahyavi, M., Mohammadizadeh, F., Foroughifard, H. and Pourkhosro, H. 2011. Effect of rotifer enriched with probiotics on the survival rate in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae and resistance to salinity stress and formalin. *Journal of Aquaculture and Fishery*, 5: 57-65. (Abstarct in English)

Rahiman, K. M. M., Jesmi, Y., Thomas, A. P. and Hatha, A. A. M. 2010. Probiotic effect of *Bacillus* NL110 and *Vibrio* NE17 on the survival, growth performance and immune response of

Bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, 252: 516-524.

Zokaeifar, H., Balcázar, J. L., Saad, C. R., Kamarudin, M. S., Sijam, K., Arshad, A. and Nejat, N. 2012. Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish immunology*, 33: 683-689.

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 3, No. 1, Spring 2014

The effect of Bacillus probiotics on the growth performance, survival rate and stress resistance of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) post larvae

Dariush Abdollahi Arpanahi[1*], Hojatollah Jafaryan[2], Mehdi Soltani[3], Hosna Gholipour Kanani[4]

1- M.Sc. student, Department of Fisheries and Forestry, Gonbad Kavous University, Gonbad kavous

2- Associate Prof., Department of Fisheries and Forestry, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous

3- Professor., Department of Aquatic Animal Health, University of Tehran, Tehran

4- Assistant Prof., Department of Fisheries and Forestry, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous

Received: 23.8.2013 Accepted: 7.1.2014

*Corresponding author: dabdollahi8@gmail.com

Abstract:

The effect of an imported and an indigenous probiotics on growth, feeding parameters and survival of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae (50±6.54 mg) was investigated during 60 days feeding trial. The shrimp was fed three times daily at 7 percent of biomass with three feeds supplemented with probiotics (an imported and an indigenous ones, and an equal amount of both) , plus a blank feed as control. Probiotic supplemented feed brought about a higher final weight and final length, specific growth rate, better feed conversion ratio and a higher resistance to stress ($p<0.05$), the highest of which was observed in the treatment containing imported probiotic. This experiment indicated that the feed supplemented with *Bacillus* probiotic can increase the growth and feeding indices and stress tolerance in *L. vannamei* larvae.

Keyword: probiotic, *Litopenaeus vannamei*, Supplementation, Stress, Growth,