Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 9:43 IRST on Friday September 22nd 2017

بررسی آثار ارگوسان و ویبرو ماکس بر رشد و بقای پست لاروهای میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*)

امیرهوشنگ بحری[1*]، قباد آذری تاکامی[2]، امین کیوان[1] و غلامحسین وثوقی[1]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۳/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۲/۲۹)

چکیده

محرک‌های ایمنی یکی از راه‌های مهم برای جلوگیری از بیماری به شمار می‌روند. ترکیب واکسیناسیون و مواد محرک سیستم ایمنی، می‌تواند توانایی واکسن‌ها را در رابطه با پیشگیری از ابتلا به بیماری‌ها و شاخص‌های رشد و بقا در میگو، افزایش دهد. در این تحقیق آثار مجزا و توام ارگوسان و واکسن ویبروماکس روی فاکتورهای رشد مانند طول کل، افزایش وزن خشک و میزان بقا در سه مرحله پست لاروی PL_1، PL_5 و PL_{15} میگوی سفید هندی(*Fenneropenaeus indicus*) بررسی شد. خوراندن واکسن به میگوها از طریق غنی‌سازی ناپلی آرتمیا (*Artemia franciscana*) صورت پذیرفت. اثر ارگوسان (تیمار ۱) و واکسن ویبرو ماکس (تیمار ۲) هرکدام در یک تیمار به صورت مجزا و در تیمار دیگر، به صورت توام (تیمار۳) به علاوه یک تیمار شاهد، جهت مقایسه مورد آزمایش قرار گرفت. با در نظر گرفتن ۴ تیمار و ۳ تکرار برای هر یک از آنها، ۱۲ سطل یکسان استفاده شد که به مقدار ۱۰ لیتر آبگیری و با تراکم ۱۰۰ لارو مرحله زوای یک در لیتر ذخیره‌سازی گردید. لاروهای مورد آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به مدت ۲۵ روز، تغذیه شدند. دوره آزمایش از مرحله زوای یک تاPL_{15} بودکه در پایان روز ۱۲ ،۱۶ و ۲۵ جهت زیست‌سنجی و تعیین میزان بقا بررسی شدند. نتایج نشان دادکه بیشترین مقدار طول کل به میلی‌متر در مراحلPL_1، PL_5 و PL_{15}در تیمار ۳ به ترتیب برابر(۵/۲۶، ۶/۴۵ و ۱۸/۴۱) و با اختلاف اندکی از آن، در تیمار۱ به ترتیب برابر(۵/۲۸، ۶/۳۲ و ۱۷/۹۴) بود که نسبت به تیمار شاهد (۴/۹۱، ۶/۰۹ و ۱۷/۳۶) در سطح $P < ۰/۰۵$ دارای تفاوت معنی‌داری بوده و تیمار ۲(۵/۱۱، ۶/۰۷ و ۱۷/۴۴) و تیمار شاهد دارای تفاوت معنی‌داری نبودند($P > ۰/۰۵$). بیشترین مقدار وزن خشک پست لاروها در روزهای ۱۲ ،۱۶ و ۲۵ در تیمار ۳ به ترتیب (۰/۲۹۶، ۰/۸۹۰ و ۲/۹۴۰ میلی‌گرم) بوده که در مقایسه با تیمار شاهد(۰/۲۱۶، ۰/۶۴۰ و ۲/۸۸۵) دارای تفاوت معنی‌داری بودند ($P< ۰/۰۵$). بیشترین مقدار بقا به درصد نیز در تیمار۳ (۷۷/۳۳، ۷۶/۳۳ و ۸۰/۶۷) محاسبه گردید که نسبت به تیمار شاهد (۵۷، ۵۷/۳۳ و ۵۹/۶۷) تفاوت معنی‌داری داشتند. به هرحال استفاده از این دو فراورده در یک برنامه غذایی مطلوب از مرحله زوای یک تا PL_{12} توانست با بالابردن مقاومت و ایمنی در پست لاروها و به دنبال آن افزایش بقا و رشد میگوها، منجر به تولید پست لاروهای مناسب جهت معرفی به استخرهای پرورشی گردد.

واژه‌های کلیدی: پست لارو، غنی‌سازی، ارگوسان، واکسن ویبروماکس، میگوی سفید هندی، آرتمیا

۱. به ترتیب دانشجوی دکترای شیلات و اعضای هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

۲. استاد بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: amirbahri52@yahoo.com

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 9:43 IRST on Friday September 22nd 2017

مقدمه

در ۲۰ سال گذشته، همراه با رشد سریع صنعت پرورش میگو، اهمیت بهداشت و هم‌چنین عوامل بیماری‌زا مشخص گردیده است. طبق نظر لایتنر و ردمن بیش از ۲۰ گونه ویروسی، از میگوهای بیمار، مورد شناسایی قرار گرفته‌اند. چندین گونه از باکتری‌ها نیز تشخیص داده شده‌اند که با عفونت‌های سیستمیک یا مرگ و میر میگوها در ارتباط بوده‌اند. گونه‌های ویبریو مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای میکربی برای میگو هستند. آنها میکرب‌های آبزی بوده که به طور گسترده در آب‌های شیرین، مصب‌ها و محیط‌های دریایی، پراکنده‌اند و عموماً در تخم سراهای پرورش میگو، رسوبات و استخرهای پرورش میگو مشاهده می شوند(۱۵).

محرک‌های ایمنی، عصاره‌های زیستی و مواد سنتزی می‌باشند که با افزایش عملکرد سلول‌های فاگوسیتیک و فعالیت باکتری‌کشی(Cytotoxic) و نیز با تولید آنتی بادی موجب تحریک پاسخ ایمنی می گردند (۱۶). در حقیقت این مواد گلبول‌های سفید را فعال می‌کنند. چنین موادی نه تنها، مقاومت موجود را نسبت به بیماری‌های عفونی بیشتر می‌کنند، بلکه خطر شیوع بیماری را کم می‌کنند (۱۵).

تحقیقات در زمینه مواد محرک سیستم ایمنی در حال توسعه بوده و در حال حاضر مواد زیادی در صنعت آبزی‌پروری استفاده می‌شوند. اثر تحریک کنندگی گلوکان، کیتین(Chitin)، لاکتوفرین(Lactoferin) و لوامیزول(Levamisole) برای ماهی و میگو گزارش شده است. هم‌چنین فاکتورهای غذایی مثل ویتامین C,B، هورمون رشد و پرولاکتین به عنوان محرک ایمنی گزارش شده‌اند. این محرک‌ها، علاوه بر افزایش عملکرد فاگوسیتوزی و افزایش فعالیت باکتری‌کشی، هم‌چنین به عنوان سلول کشنده طبیعی کمپلمان، لیزوزیم و پاسخ آنتی بادی را تحریک می‌کنند(۱۶). اثر تحریک‌کنندگی آلژنیک اسید یا ارگوسان در ماهی و میگو گزارش گردیده است (۱۴). از دیگر فواید محرک‌های ایمنی کاهش مرگ و میر، نسبت به پاتوژن‌های فرصت‌طلب، کاهش مرگ و میر آبزیان جوان و افزایش مقاومت در برابر پارازیت‌ها بوده است. در نتیجه نرخ زنده مانی را افزایش می‌دهند (۱۱). برای مثال تنظیم سیستم ایمنی در قزل آلای رنگین کمان با تزریق صفاقی ارگوسان مشاهده شد(۹، ۱۰ و ۱۳).

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

محرک‌های سیستم ایمنی موادی هستند که گلبول‌های سفید خون را فعال می‌کنند. برخی از محرک‌های ایمنی لنفوسیت‌ها را فعال می‌کنند که نهایتاً عوامل فعال کننده ماکروفاژ را می‌سازند(۱۵). البته میزان لنفوسیت‌ها به تغییرات درجه حرارت آب بستگی دارد به طوری که در فصول سرد سال سطوح لیزوزیم و درصد لنفوسیت‌ها افزایش معنی‌داری را نشان داده است (۵). بنابراین ترکیبات فعال ارگوسان، تکثیر لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها، تولید سیتوکین و لیزوزیم را افزایش می‌دهند(۱۷).

در تحقیقی، آلژینات به عنوان محرک و تنظیم‌کننده ایمنی به صورت کپسوله مورد مصرف آرتمیا قرار گرفت و سپس به لارو هالیبوت *Hippoglassus hippoglassus* خورانده شد و سبب افزایش مقاومت در برابر بیماری ویبریوزیس گردید (۱۸).

عملیات واکسیناسیون موفق و مؤثر در میگوی ببری سیاه(*Penaeus monodon*) و میگوی کوروما(*P. japonicus*) علیه بیماری ویبریوزیس با واکسن تهیه شده از ویبریوی کشته شده با فرمالین به ترتیب توسط ایتامی و همکاران و تونیسن و همکاران گزارش گردیده است(۸ و ۲۱). عملیات واکسیناسیون توسط گونه‌های مختلف ویبریو (که توسط فرمالین کشته شده بودند) ثابت نمود که حدود ۵۰ روز پس از عملیات واکسینه کردن، علیه بیماری ویبریوزیس مؤثر بوده است (۹).سانگ و همکاران نشان دادند میگوهای ببری که در حمام محلول باکترین حاصل از باکتری *V. vulnificus* به مدت ۲ ساعت و

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 9:43 IRST on Friday September 22nd 2017

غلظت ۱ میلی‌گرم در لیترغوطه‌ور بوده‌اند، نسبت به آنهایی که در گروه‌های شاهد بوده‌اند از رشد بهتری برخوردار گردیدند(۱۹).

نتایج مشابه، در میگوهایی که در محلول سوسپانسیون گلوکان با غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر غوطه‌ور بوده‌اند، به دست آمده و حاکی از آن است که مقادیر فوق نسبت به غلظت‌های کمتر مثل ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر و گروه‌های شاهد، رشد بسیار بهتری داشته‌اند (۲۰).

بونیا راتپالین و همکاران گزارش نمودند که میگوهای ببری مورد تغذیه، با غذای مکمل حاوی پپتیدوگلیکان (PG) رشد بهتر و ضریب تبدیل غذایی(FCR=Food Convertion Ratio) بهتری را نسبت به آنهایی که با غذای معمولی تغذیه شدند، داشته‌اند(۶). آثار مدت زمان تغذیه با جیره غذایی حاوی بتا-گلوکان حاصل از مخمر و آلژنیک اسید (ارگوسان) در ماهی سی باس نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در فاکتورهای رشد، بقا و ضریب تبدیل غذایی بین گروه تیمار و شاهد در دوره کوتاه مدت (۱۵ روز جیره حاوی ۰/۵ درصد ارگوسان و ۰/۱ درصد بتاگلوکان) بود. ولی در بررسی بلند مدت(۲۴۰ روز پس از پایان ۴ سیکل تغذیه از ارگوسان) اگرچه، ضریب رشد ویژه، اختلافات زیادی در طی دوره آزمایش نشان داده است(ضریب رشد ویژه تا اندازه‌ای در ماهی تیمار بالاتر بود) ولی این اختلاف، همانند سایر فاکتورها معنی‌دار، نبوده است (۵). در ماهی Dentex dentex و ماهی آزاد اطلس نیز، استفاده از ارگوسان در درجه حرارت۱۴ درجه سانتی‌گراد بیشترین رشد را نشان داده است. بنابراین مواد محرک ایمنی در طی فصول سرد که درجه حرارت آب پایین بوده و ماهی تغذیه نمی کند می تواند اثر مثبتی داشته باشد (۵).

آلژنیک اسید یا ارگوسان از چندین جنس جلبک قهوه‌ای مثل *Macrocystis*، *Laminaria*، *Ascophyllum* می‌تواند مشتق شود(۱۷). ارگوسان مورد استفاده در این پژوهش محتوی یک درصد آلژنیک اسید از جنس *Laminaria digitata* یا *Ascophyllum nodosum* است. بنا بر نظر لوئیس مهم‌ترین آلژینات جهان از *Ascophyllum nodosum* و *Macrocystis pyrifera* عصاره‌گیری می‌شود.(۱۲). در پستانداران آلژینات و آلژنیک اسید، اثرات بیولوژیکی مهمی مثل افزایش دفع کلسترول و پذیرش گلوکز (۱۱)، جلوگیری از تکثیر سلول‌های ماهیچه‌ای صاف، سرکوب کردن تکثیر سلول‌های فیبروبلاست و تشکیل کلاژن در پوست و جلوگیری از آزادسازی هیستامین از ماهیچه دارد (۱۰).

آکواک ارگوسان(Aquavac Ergosan) یک محصول کاملاً طبیعی است و به عنوان یک افزودنی خوراکی پذیرفته شده است. تنظیم‌کننده‌ها و تحریک‌کننده‌های دستگاه ایمنی می‌توانند نقش مهمی در آبزی پروری داشته باشند. استفاده از آنها سبب افزایش پاسخ ایمنی غیراختصاصی و بهبود پاسخ ایمنی اختصاصی علیه عوامل بیماری‌زای مختلف می‌گردد. ضمن آنکه می‌تواند پاسخ ایمنی را در حیواناتی که دستگاه ایمنی آنها ضعیف و یا در حال تکمیل است (بچه ماهی، میگوها) افزایش دهد. آکواوک ویبروماکس(Aquavac Vibromax) نیز، یک محصول امولسیونه بی‌خطر، با استفاده آسان و مؤثر می‌باشد که از طریق خوراکی با استفاده از ناپلی آرتمیا به عنوان یک ناقل یا واسط، داده می‌شود (۱۷).

روش جدید استفاده از واکسن آکواوک ویبروماکس (غنی‌سازی با ناپلی آرتمیا) اولین واکسن از نوع خود است که در سطح تجاری قابل استفاده بوده که با استفاده از یک برنامه تغذیه‌ای مطلوب و شرایط بهداشتی مناسب، میزان بقا و رشد میگوهای پرورشی را افزایش داده و شرایط بهداشتی را بهبود می‌بخشد(۱۷). این تحقیق، اولین پژوهش در موردمیگو و این واکسن همراه با ارگوسان در ایران است که هدف از آن ایجاد مقاومت و ایمنی در لارو میگوهای پرورشی و رفع نگرانی‌های ناشی از خسارات اقتصادی بیماری‌های ویروسی و عفونی در استان‌های سواحل جنوبی ایران بوده است.

از آنجائی که پرورش میگو در مراحل لاروی و پست لاروی بسیار حساس و مهم بوده و اغلب، تلفات عمده ای در این مراحل دیده می‌شود، لذا به دلیل امکان بروز بیماری، عدم

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 9:43 IRST on Friday September 22nd 2017

رشد کافی و تولید کم محصول در شرایط کنونی کشور، یکی از مواردی که می‌تواند به افزایش رشد و بقای پست لاروهای میگو کمک نماید، در نظر گرفتن مواد بالا برنده ایمنی و مقاومت است. با توجه به موارد ذکر شده در این پژوهش سعی گردید با فرض اضافه کردن مواد مورد آزمایش به غذا و دارا بودن خواص مورد نظر، اهدافی شامل رشد بیشتر، بقای بالاتر و افزایش تولید به دست آید.

به عبارتی مشاهده گردد که آیا ارگوسان و واکسن اضافه شده به آب و آرتمیای غنی شده در مراحل پرورش لاروی و پست لاروی میگوی سفید هندی، سبب افزایش فاکتورهای رشد و بقا خواهد شد یا تأثیر معنی‌داری نخواهد داشت و در ادامه میانگین تکرارهای هر تیمار بایکدیگر مقایسه شد. در ضمن نتایج این پژوهش بدون تردید به کاهش استفاده از مواد شیمیایی و داروها در آبزی پروری کمک نموده و تولیدات با کیفیت مناسب‌تری را از نظر سلامت تغذیه‌ای برای مصرف کنندگان ارائه خواهد نمود.

مواد و روش‌ها

۱- محل اجرای آزمایش

این پژوهش در کارگاه تکثیر میگوی هرمز لارو در طول جغرافیایی ″۱۸/۲، ′۰۱ ، °۵۷ و عرض جغرافیایی ″۱۱/۶، ′۴۸، °۲۶ وابسته به بخش خصوصی واقع در ۳۵ کیلومتری شهرستان میناب (بخش کوهستک)در استان هرمزگان انجام شد.

۲- غنی‌سازی آرتمیا با واکسن ویبرو ماکس

در این آزمایش از سیست آرتمیای فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) عمل آوری شده در شرکت Inve تایلند استفاده گردید. روزانه ۲۰گرم سیست که هر گرم آن حاوی ۲۷۰۰۰۰ عدد سیست بود به وسیله ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم، توزین گردیده و به وسیله آب دریای فیلتر شده با شوری ۳۰ ppt، pH ۷/۵-۷ و دمای °C ۳۰- ۲۹ کپسول زدایی گردید(۴). حدود نیمی از ناپلی‌های حاصله پس از تخم گشایی، در ظروف ویژه‌ای (بطری‌های ۱/۵ لیتری) جداگانه نگه‌داری شده و تا مرحله دوم دگردیسی(Instar II) جهت غنی شدن با واکسن نگه‌داری شدند. تراکم آنها در این زمان به ۱۰۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰ عدد در لیتر رسید. بدین ترتیب ۱۲-۱۰ ساعت بعد از تخم گشایی واکسن مورد نظر به میزان ۱ میلی‌لیتر به هر لیتر از ظروف حاوی سوسپانسیون ناپلی‌ها افزوده گردید(۱۷).

مابقی سیست‌های کپسول‌زدائی شده در ظروف دیگری تخم‌گشایی گردید. با این تفاوت که هیچ‌گونه واکسنی به آن اضافه نشد. از ناپلی‌های حاصل از این سیست‌ها جهت تغذیه سایر تیمارهایی که از واکسن بی بهره بودند نظیر تیمار کنترل (شاهد) و تیمار ارگوسان استفاده گردید.

معمولاً سیست‌ها پس از ۱۸-۱۴ ساعت تخم‌گشایی گردیده و همان‌طور که ذکر شد ۱۲-۱۰ ساعت پس از آن، یعنی در دومین مرحله دگردیسی به مدت حداقل ۱/۵ ساعت و حداکثر ۶ ساعت مورد غنی‌سازی قرار گرفتند(۱۷) تا آرتمیاها حداکثر جذب را انجام داده و جهت تغذیه لاروهای میگوی تیمار اثر واکسن(تیمار۲) و اثر واکسن + ارگوسان(تیمار۳) مورد تغذیه قرار گیرند.

این عمل در طی زمان آزمایش به طور روزانه انجام گرفت تا همواره آرتمیای تازه در اختیار پست لاروها قرار داده شود. بدین ترتیب در انتهای عملیات غنی‌سازی ناپلی‌های آرتمیا پس از صید توسط تورهای۴۰۰ میکرونی مخروطی تنظیفی با آب شیرین کاملاً شسته شده(۳) و سپس به میزان مورد نیاز در اختیار لاروها قرار گرفتند(۱۷).

۳- پرورش لاروهای میگوی سفید هندی

جهت فراهم نمودن لاروهای مورد نیاز ۵ مولد ماده پرورشی جفت‌گیری کرده (اسپرم دار) با وزن متوسط ۴۰گرم که براساس صفات ظاهری در مرحله ۴ رسیدگی جنسی بودند(۱)، انتخاب گردیدند و بعد از انجام مراحل تخم ریزی، لاروهای حاصل تا مرحله پروتوزوآ I (Protozoa I) در تانک‌های ۳۰۰ لیتری و در اطاق تخم‌ریزی نگه‌داری شده و آنگاه به سطل‌های ۲۰ لیتری

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 9:43 IRST on Friday September 22nd 2017

که جهت آزمایش تهیه شده بودند، منتقل شدند(۳). برای این منظور یک روز قبل از شروع آزمایش و ذخیره‌سازی لاروها، کلیه ظروف با آب فیلتر شده دریا، آبگیری شد. واحدهای آزمایشی با آب با شوری ۳۲-۳۰ قسمت در هزار که هوادهی دائمی در آنها برقرار بود به میزان ۱۰ لیتر آبگیری شده و به نسبت ۱۰۰ زوا در لیتر ذخیره‌سازی گردیدند(۱، ۲ و ۳). در این زمان، لاروها به طور یکسان ۶ نوبت در روز با جلبک *Chaetocerous* sp. (جیره غذایی پایه یکسان در کلیه تیمارها) تغذیه شدند. ناگفته نماند که در انتهای مراحل ناپلیوس تا مرحله زوآ I به هر ظرف در هرنوبت غذایی، ۱۰میلی‌لیتر از محلول کشت جلبکی (کتوسروس) که به شکوفایی پلانکتونی رسیده بود اضافه شد و در مراحل بعدی این میزان به ۲۰ میلی‌لیتر در هرنوبت رسید. تراکم جلبکی تقریباً ۲×۱۰^{۶} بود(۱). پس از مرحله مایزیس I (Mysis I) تا PL_{15} کم کم ناپلی آرتمیا به همراه غذای کنستانتره به غذای لاروها و سپس پست لاروها اضافه گردید. میزان غذادهی با ناپلی آرتمیا در مراحل اولیه ۴-۳ ناپلی به ازای هر پست لارو در هر نوبت بود و در مراحل بعدی به ۱۰-۸ ناپلی به ازای هر لارو افزایش یافت(۱). هم‌چنین با توجه به نوع تیمارها، ارگوسان و واکسن، به صورت جداگانه و توأم بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد(۱۷).

مقادیر مورد نظر ارگوسان و واکسن بر اساس دستورالعمل مؤسسه تولید کننده (Schering-Plough) در دوران لاروی از مرحله زوآی II تا PL1 به لاروها و هم‌چنین به مدت ۱۰ روز از زمان PL_2 تا PL_{12} به پست لاروها خورانده شد(۱۷). هم‌چنین سعی گردید تا از بروز استرس قبل و بعد از واکسیناسیون جلوگیری شده، میگوها در شرایط بهداشتی خوب نگه‌داری شوند ودر کل دوره پرورش از خوراک خوب و بالانس شده تغذیه کنند. غذای پایه PL ، از نوع Epac classic و ترکیب آن شامل ۴۵ ٪ پروتئین، ۷ ٪ چربی، ۳ ٪ فیبر و۱۰ ٪ رطوبت بوده که به میزان ۲۰-۵ گرم به ازای هر ۱۰۰۰۰۰ پست لارو در روز و حداقل ۴ بار مورد استفاده قرار گرفت(۱).

تا مرحله مایزیس I هیچ‌گونه تعویض آبی صورت نپذیرفت و هوادهی نیز به طور دائم از طریق سیستم هوادهی مرکزی و با نصب شیلنگ‌های ویژه و سنگ هوا در هر ظرف جهت تعلیق یک‌نواخت(۴)، انجام گرفت. با شروع مرحله مایسیس روزانه حدود ۳۰ درصد آب تعویض گردید که به مرور زمان این مقدار افزایش یافت و در نهایت به حدود ۷۰ درصد رسید(۲ و ۳).

۴- بررسی عملکرد رشد و بقای پست لاروها

دراین مرحله، فاکتورهای رشد شامل طول کل (فاصله نوک روستروم تا انتهای تلسون برحسب میلی‌متر)، و وزن خشک (برحسب میلی‌گرم)، هم‌چنین درصد بقای پست لاروها در مراحل PL1 و PL5 و PL15 بر اساس ذخیره‌سازی اولیه لاروها مورد سنجش قرار گرفت. لازم به ذکر است که از هر تکرار ۲۰ لارو به صورت تصادفی برداشت شده و شاخص‌های رشد در آنها محاسبه گردید(۲).

جهت اندازه‌گیری طول کل ازمیکرومتر چشمی و کولیس استفاده گردید. سنجش وزن خشک نیر بدین صورت بود که پس از سنجش طول کل، آنها را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۵۵ درجه قرار داده و پس از آن در روز بعد در دسیکاتور گذاشته و آنگاه با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم با مارک Startorius,210 S,Model :BL ساخت آلمان نسبت به توزین آنها اقدام گردید و سپس میانگین ۲۰ نمونه اشاره شده بر اساس میلی‌گرم محاسبه گردید(۲ و ۳).

در طول دوره آزمایش، میزان دما، اکسیژن محلول، شوری و pH به صورت روزانه در ۲ نوبت ساعت ۸ صبح و ساعت ۸ شب اندازه‌گیری و ثبت گردید. که تمام این موارد توسط دستگاه چندمنظوره شامل اکسیژن متر، pH متر، شوری‌سنج و ترمومتر دیجیتالی Multi 340i/SET با مارک (WTW) ساخت آلمان انجام گرفت.

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 9:43 IRST on Friday September 22nd 2017

۵- تجزیه و تحلیل آماری

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

۱-تیمار شاهد: لاروهایی که با روش جاری اکثرتخم سراهای میگو، مورد تغذیه قرار گرفتند.

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

۳-تیمار ۲(واکسن ویبروماکس): لاروهایی که به وسیله آرتمیای غنی شده با واکسن (هر ۱۰۰ میلی‌لیتر واکسن جهت مصرف روزانه یک میلیون پست لارو) در جیره غذایی پایه خود مورد تغذیه قرار گرفتند.

۴-تیمار ۳ (ارگوسان + واکسن): لاروهایی که از آرتمیای غنی شده با واکسن به همراه ارگوسان در جیره غذایی خود بهره‌مند بودند.

داده‌های اندازه‌گیری شده باآنالیز واریانس یکطرفه (One Way- ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و سپس توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن، مقایسه میانگین‌ها در سطح آماری ۹۵ ٪ صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از برنامه‌های SPSS و EXCEL انجام گردید.

نتایج

۱- میانگین طول کل پست لاروها (برحسب میلی‌متر) در بین تیمارها و در مراحل مختلف PL در جدول۱ ارائه شده است.

در مرحله PL_1 میزان طول کل پست لاروها دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند(P<۰/۰۵). بیشترین طول کل در این مرحله، مربوط به تیمار ۱ بوده که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری دارد. هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن، نشانگر آن است که اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ وجود ندارد. کمترین طول کل پست لاروها در تیمار شاهد بوده که با تیمار۲ یا گروه میگوهای واکسینه شده اختلاف معنی‌داری نداشت(P >۰/۰۵).

با مقایسه اثر تیمارها بر طول کل پست لاروها در مرحله PL_5 نسبت به تیمار شاهد، میزان طول کل پست لاروها دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر می‌باشند(P<۰/۰۵). بیشترین مقدار برای طول کل در این مرحله، مربوط به تیمار ۳ بوده که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت.هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن، مؤید آن است که تفاوت معنی‌دار بین تیمار ۲ و تیمار شاهد وجود ندارد(P >۰/۰۵).

در مرحلهPL_{15} نیز مشخص گردید که میزان طول کل پست لاروها (برحسب میلی‌متر) در بین تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر هستند. بیشترین مقدار برای طول کل مربوط به تیمار۳ بوده که باسایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری است.

۲- میانگین وزن خشک پست لاروها(برحسب میلی‌گرم) در بین تیمارها و مراحل مختلف PL در جدول ۱ آورده شده است.

مقایسه اثر تیمارها بر وزن خشک پست لاروهای مرحله PL_1، نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) در میزان وزن خشک پست لاروها (برحسب میلی‌گرم) در بین تیمارهای آزمایشی است. بر این اساس بیشترین مقدار وزن خشک به دست آمده مربوط به تیمار۳ بوده که نسبت به سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری است. در ضمن مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون دانکن، مؤید آن است که تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمار۲ وجود ندارد.

در مرحله PL_5 نیز میزان وزن خشک پست لاروها (برحسب میلی‌گرم) در بین تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌داری با یکدیگر می‌باشند(P<۰/۰۵). بیشترین مقدار به دست آمده مربوط به تیمار۳ بوده که نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت.

در مرحله PL_{15} نیز میزان وزن خشک پست لاروها (برحسب میلی‌گرم) در بین تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 9:43 IRST on Friday September 22nd 2017

جدول۱. مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و بقا در پست لاروهای میگوی سفید هندی در تیمارهای مختلف

مراحل مختلف / تیمارهای مورد مقایسه در هر شاخص		ZOA1-PL1 (±SD میانگین)	PL1-PL5 (±SD میانگین)	PL5-PL15 (±SD میانگین)
طول کل (mm)	تیمارشاهد	۴/۹۱±۰/۰۷^{b}	۶/۰۹±۰/۱۷^{b}	۱۷/۳۶±/۲۹^{c}
	تیمار ۱(ارگوسان)	۵/۲۸±۰/۱۲^{a}	۶/۳۳±۰/۱۱^{ab}	۱۷/۹۴±۰/۱۷^{b}
	تیمار۲(ویبروماکس)	۵/۱۱±۰/۱۴^{ab}	۶/۰۷±۰/۱۷^{b}	۱۷/۴۴±۰/۱۷^{c}
	تیمار۳(ارگوسان+ویبروماکس)	۵/۲۶±۰/۱۷^{a}	۶/۴۵±۰/۱۲^{a}	۱۸/۴۱±۰/۰۴^{a}
وزن خشک (mg)	تیمار(شاهد)	۰/۲۲±۰/۰۱ ^{c}	۰/۶۴±۰/۰۷^{bc}	۲/۸۸±۰/۱۳^{a}
	تیمار ۱(ارگوسان)	۰/۲۶±۰/۰۱ ^{b}	۰/۷۴۵±۰/۰۱ ^{b}	۲/۹۴±۰/۰۸^{a}
	تیمار۲(ویبروماکس)	۰/۲۳±۰/۰۱^{bc}	۰/۶۱±۰/۰۳ ^{c}	۲/۵۷±۰/۰۴ ^{b}
	تیمار۳(ارگوسان+ویبروماکس)	۰/۳۰±۰/۰۱^{a}	۰/۸۹±۰/۰۵^{a}	۲/۹۴±۰/۱۶^{a}
بقا (٪)	تیمارشاهد	۵۷±۶/۵۶^{b}	۵۷/۳۳±۱/۵۳^{b}	۵۹/۶۷±۴/۷۳ ^{b}
	تیمار ۱(ارگوسان)	۷۲±۶/۵۶^{a}	۶۳/۳۳±۴/۵۱ ^{b}	۷۲/۳۳±۵/۵۱ ^{ab}
	تیمار۲(ویبروماکس)	۵۷/۶۷±۱۰/۰۲^{b}	۶۲/۰۰±۱۱/۱۴ ^{b}	۶۲/۳۳±۶/۰۳ ^{b}
	تیمار۳(ارگوسان+ویبروماکس)	۷۷/۳۳±۳/۰۶^{a}	۷۶/۳۳±۴/۰۴^{a}	۸۰/۶۷±۶/۰۳ ^{a}

(میانگین ± انحراف معیار. اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند و حروف همانند تفاوت آماری معنی‌دار ندارند (P<۰/۰ ۵)).

(تعداد تکرار در هر گروه n=۳ می باشد.)

با یکدیگر می‌باشند. بیشترین مقدار برای وزن خشک مربوط به تیمار۳ بوده که فقط تیمار ۲ با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری است.

۳- میانگین درصد بقای پست لاروها در بین تیمارها و مراحل مختلف PL در جدول (۱) ارائه گردیده است.

میانگین درصد بقای پست لاروهای تیمارهای مختلف در مرحله PL_1، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار(P <۰/۰۵) و نتایج این آزمون ، بیشترین میزان بقا را به تیمار ۳ نسبت داده که با تیمار شاهد و تیمار ۲ دارای تفاوت معنی‌دار(P <۰/۰۵) بوده لیکن با تیمار ۱ تفاوت معنی‌داری نداشت.

در مرحله PL_5 نیز بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P <۰/۰۵). به گونه‌ای که بیشترین میانگین درصد بقا، مربوط به تیمار۳ بوده که با تیمار شاهدو تیمارهای ۱ و ۲ تفاوت معنی‌داری دارد.

درمرحله PL_{15} نیز اختلاف معنی‌داری(P <۰/۰۵) بین تیمارها وجود دارد. بیشترین مقدار درصد بقا مربوط به تیمار ۳ بوده که نسبت به تیمار شاهد و تیمار۲ تفاوت معنی‌داری داشت ولی با تیمار ۱ در یک گروه قرار می‌گیرد. تیمارهای۲ و شاهد نسبت به هم تفاوت معنی‌داری نداشتند(P >۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

بالاتر بودن شاخص‌های مورد بررسی در مراحل اولیه پرورش نوزادان میگو(مرحله زوآ II تا PL1) در تیمارهای مورد آزمایش نسبت به تیمار شاهد نشان‌دهنده اثر مثبت استفاده از ارگوسان و ویبروماکس بر رشد و باز ماندگی لاروها در شرایط این آزمایش بوده و می‌تواند نشان دهنده ضعف سیستم ایمنی بدن در افراد تیمار شاهد باشد. اگر چه بقای پایین لاروهای میگو در مراحل زوآ به اندازه کوچک آنها نسبت داده می‌شود(۲ و ۳). در مرحله

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 9:43 IRST on Friday September 22nd 2017

PL_1 تا PL_5 نیز بیشترین رشد و بقا مربوط به تیمار ۳ (واکسن + ارگوسان) بوده وتفاوت آن با تیمار شاهد در سطح $P < ۰/۰۵$ معنی‌دار بود. بدین معنی که پست لاروهای تغذیه شده با ارگوسان به همراه ویبروماکس، بقای بالاتری نسبت به آنهایی که جیره‌های غذایی غنی نشده مصرف نموده‌اند (شاهد) نشان دادند که این مورد تأیید یافته‌های مرحله قبلی می‌باشد. به طوری که از مرحله زوآ II تا PL_1 و هم‌چنین PL_1 تا PL_5 بیشترین طول کل و وزن خشک در تیمارهای ۳ و ۱ آزمایش، دیده شد حال آن‌که این دو تیمار تفاوت معنی‌داری را با یکدیگر نشان ندادند، در حالی که تفاوت آنها با تیمار شاهد که مورد غنی سازی قرار نگرفت، معنی‌دار بود($P < ۰/۰۵$). هم‌چنین در پایان دوره یعنی PL_{15} نتایج مشابه کسب گردید، یعنی بیشترین مقدارطول کل و وزن خشک مربوط به تیمار ۳ بوده که نسبت به تیمار شاهد و نیز تیمار۲ تفاوت معنی‌داری داشت. علت این امر غنی‌سازی آرتمیا با واکسن وارگوسان بوده، به علاوه این‌که اندازه مناسب‌تر و در صد بقا بالاتر لاروها در این دو تیمار قابل ذکر است. یعنی پست لاروهایی که از نظر رشد وضعیت بهتری داشتند، بقای بیشتری را نیز نشان دادند. بنابراین در این مرحله از رشد میگوها (از مرحله PL_2 به بعد) به علت اینکه خاصیت پالایش‌گری میگوها از بین می‌رود و میگوها کم کم حالت شکارچی به خود می‌گیرند، افزودن واکسن به غذای زنده می‌تواند درصد بقا را بالا برد. در راستای این تحقیق نتایج یک آزمایش فارمی دیگری که در مزرعه‌ای واقع در استان بوشهر توسط نگارنده روی پست لاروهای میگوی سفید غربی(*Litopenaeus vannamei*) مورد تغذیه با واکسن+ ارگوسان در مراحل PL_1،PL_5 و PL_{15}، انجام گرفت، نشان داد که فاکتورهای رشدو بقا تمام تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری داشتند ($P < ۰/۰۱$). هم‌چنین در آزمایش جداگانه دیگری که واکسن تنها از طریق آب و غوطه‌وری لارو میگوها در آن استفاده گردید باز هم بقاء لاروها بیشتر از گروه شاهد بود که این امر تا حدود زیادی می‌تواند به علت تغذیه میگوها از آرتمیاهایی باشد که در محیط پرورشی میگو به واکسن آغشته شده بودند.

در این تحقیق کلیه پارامترهای کیفی آب در دامنه مطلوب جهت تکثیر وپرورش پست لاروی میگوی سفید هندی قرارداشت. دامنه تغییرات دما،۳۱-۲۹/۸ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۶/۲-۵/۷ میلی‌گرم بر لیتر، pH ۸/۳۲-۸/۲۰ و شوری ۳۲/۱-۳۱/۹ قسمت در هزار بود. نتایج نشان داد که افزودن ارگوسان و واکسن تأثیری بر پارامترهای کیفی آب از جمله اکسیژن محلول، شوری، دماو pH نداشته است. البته به دست آمدن چنین نتایجی چندان غیرمنتظره نبود، چرا که به طور دائمی و ثابت، هوادهی در ظروف پرورشی لاروی هاوپست لاروها انجام می‌شد.

مونترو و همکاران در سال ۲۰۰۵ با مطالعه‌ای که بر روی میگوی سفید غربی داشته‌اند به این نتیجه رسیدند که اثر واکسن و ارگوسان به صورت توام، اثر بخشی بهتری داشته که زمان تجویز واکسن را از مراحل PL_4 تا PL_{14} عنوان نمودند یعنی در حین استفاده از واکسن، ارگوسان نیز به پست لاروها خورانده می‌شد که با یافته‌های این تحقیق مطابقت خوبی داشت(۱۴). یعنی با توجه به خاصیت همیاری(Synergestic) ارگوسان با واکسن، تیمار مربوطه، از درصد بقا و شاخص‌های رشدی بالاتری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بوده است.

در بررسی دیگری، مونترو در سال ۲۰۰۵ گزارش کرد که اضافه کردن ارگوسان به جیره غذایی باعث پوست اندازی میگوی سفید بالغ بعد از ۱۵ روز شد. به طوری که ۰/۵ درصد ارگوسان در جیره غذایی توانست باعث افزایش وزن و طول شده و هم‌بستگی معنی‌داری بین رشد و مقدار ارگوسان مشاهده شد(۱۴). دست آوردهای پژوهش حاضر نیز در تایید آن می‌باشد.

گومز-گیل و همکاران با اشاره به قابلیت آرتمیا جهت غنی سازی با دو گونه از باکتری‌های ویبریو عنوان نموده‌اند که این امر به شدت به نوع باکتری مورد استفاده، زمان در معرض قرار دادن آرتمیا با باکتری و وضعیت باکتری (زنده یا مرده بودن آن) بستگی داشته و در نهایت سبب افزایش رشد و درصد بقا پست

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 9:43 IRST on Friday September 22nd 2017

لاروهای میگو گردیده است (۶). به هر حال گذشته از قابلیت غنی‌سازی آرتمیا با واکسن، نکته‌ای که بیش از همه در آزمایش مرحله دوم (مرحله پست لاروی) جلب توجه نمود بقای بیشتر گروه واکسینه شده نسبت به گروه شاهد بود که این امر به دلیل تغذیه مستقیم میگوها با واکسن تجمع یافته در بدن آرتمیای غنی‌سازی شده است.

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

نتیجه‌گیری

۱- از آنجا که پست لارو میگوها، همواره در مواجهه با گونه‌هایی از عوامل فرصت طلب و اختصاصی بیماری‌زا مانند ویروس لکه سفید و عوامل باکتریایی از قبیل گونه‌های Vibrio و Pseudomonas می‌باشند. استفاده از واکسن و ارگوسان به عنوان مکمل تغذیه لاروهای میگو، توصیه می‌شود، بویژه تیمار ارگوسان به صورت ترکیب با آرتمیای غنی شده با واکسن، که موجب افزایش شاخص‌های رشد و درصد بقا در پست لاروهای میگوی سفید هندی شده و تلفات در این تیمار نسبت به بقیه کاهش معنی‌داری داشت.

۲- برای تغذیه پست لاروهای میگوی سفید هندی از مرحله PL_2 تا PL_{12} به جهت اندازه بزرگ‌تر آنها استفاده از آرتمیای غنی شده با واکسن به همراه ارگوسان، مناسب‌تر بوده و باعث افزایش رشد و بقای آنها گردید.

۳- کارآیی ارگوسان به صورت مجزا در پرورش پست لاروهای میگوی سفید هندی به مراتب بیشتر از تیمار اثر واکسن بود.

سپاسگزاری

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

منابع مورد استفاده

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

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

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

4. Azari Takami, G., H. Mahmoodzadeh and Z. Grailou. 2001. Survey of the stability of n-3 highly unsaturated fatty acids following enrichment of Artemia by various oil and subsequent starvation. International Workshop on Artemia , Urmia, Iran, 12 – 15 May 2001, PP: 13 – 14.
5. Bagni, M., N. Marino, M. Finoia , G. Abelli, L. Scapiogliati , G. Tiscar and G. Marino. 2004. Short and long term effect of dietary yeast B- glucan (Macrogard) and algenic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrachus labrax*). Fish & Shellfish Immunol. 311-325pp.
6. Boonyaratpalin, M., K. Supamataya and Y. Toride. 1995. Effect of peptidoglucan (PG) on growth, survival, immune

responses and tolerance to stress in black tiger shrimp, Penaeus monodon, In: Shariff. M., Subasighe, R.P., Arthur, J. R. (Eds), Diseases in Asian Aquaculture. Vol. 11. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. PP: 469-477.

7. George, I. and N. Teroki. 1999. Fish Immune System Organism, Pathogen and Environment. Academic Press., USA.
8. Itami, T., Y. Takahashi and Y. Nakamura. 1989. Efficiency of vaccination against vibriosis in cultured kuruma prawns Penaeus japonicus. J. Aquatic Anim. Health 1:238-242.
9. Itami, T., Y. Takahashi, E. Tsuchihira, H. Eguse and M. Kondo. 1993. Enhancement of disease resistance of kuruma prawn penaeus japonicus and increase in phagocytic activity of prawn hemocytes oral administration of β-1, 3 glucan (schizophyllan). PP: 375-378.
10. Kawada, A., N. Hiura, S. Tajima and H. Takahara. 1999. Alginate oligosaccharides stimulate VEGF– mediated growth and migration of human endothelial cell. Arch. Derm. Res. 291:542-547.
11. Kimura, Y., K. Watabe and H. Okuda. 1996. Effect of soluble sodium alginate on cholesterol excertin and glucose tolerance in rats. I. Ethnopharmacol. 54: 47-54.
12. Lewis, j. G., N. F. Stanley and G. G. Guist. 1990. Commercial Production and Applications of Algal Hydrocolloids. Combridge University Press, UK.
13. Miles, D. J. C., J. Polchana, J. Lillet, S. Kanchanakhan, K. D. Thompson and A. Dams. 2001. Immunostimulation of striped snake head (*Channa striata*) against epizootic ulcerative syndrome. Aquaculture 195:1-15.
14. Montero, R. A., D. Mcintosh, R. Sanchez and I. Felores. 2005. Immunostimulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following dietary administration of Ergosan. J. Invertebrate Patol. 91: 188-194.
15. Raa, J. 2000. The Use of Stimulants in Fish and Shellfish Feeds. University of Troms, Norway.
16. Sakai, M. 1998. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture 172: 63-92.
17. Schering plough animal health aquaculture corporation. 2005. Union, New Jersey. Brief about Aquavac Ergosan and Aquavac Vibromax Vaccine. (www.spaquaculture.com).
18. Skjermo, J. and Q. Bergh. 2004. High-M alginate immunostimulation of Atlantic halibut (*Hippolossus hippolossus*) larvae using Artemia for delivery increase resistance against vibriosis. Aquaculture 238:107-113.
19. Sung, H. H., Y. L. Song and G. H. Kou. 1991. Potential uses of bacterin to prevent shrimp vibriosis. Fish and Shellfish Immunol. 1:311-312.
20. Sung, H.H., G.H. Kou and Y.L. Song. 1994. Vibriosis resistance induced by glucan treat shrimp (*Penaeus monodon*) via immunostimulation. J. Crust. Biol.16: 279-285.
21. Teunissen, O.S.P. R. Faber, G.H.R. Booms, T.Latscha and J.H. Boon. 1998. Influence of vaccination on vibriosis resistance of the giant black tiger shrimp penaeus monodon (Fabricius). Aquaculture 164: 359-366.

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 9:43 IRST on Friday September 22nd 2017