

# بررسی آثار ارگوسان و ویبرو ماکس بر رشد و بقای پست لاروهای میگوی سفید هندی

*(Fenneropenaeus indicus)*

امیر هوشنگ بحری<sup>۱\*</sup>، قباد آذری تاکامی<sup>۲</sup>، امین کیوان<sup>۱</sup> و غلامحسین وثوقی<sup>۱</sup>

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

## چکیده

محرك‌های ایمنی یکی از راه‌های مهم برای جلوگیری از بیماری به شمار می‌روند. ترکیب واکسیناسیون و مواد محرك سیستم ایمنی، می‌تواند توانایی واکسن‌ها را در رابطه با پیشگیری از ابتلا به بیماری‌ها و ساختارهای رشد و بقا در میگو، افزایش دهد. در این تحقیق آثار مجزا و توان ارگوسان و واکسن ویبروماکس روی فاکتورهای رشد مانند طول کل، افزایش وزن خشک و میزان بقا در سه مرحله پست لاروی PL<sub>1</sub>، PL<sub>5</sub> و PL<sub>15</sub> 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) هر کدام در یک تیمار به صورت مجزا و در تیمار دیگر، به صورت توان (تیمار ۳) 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، تعذیه شدند. دوره آزمایش از مرحله زوای یک تا ۱۵ بود که در پایان روز ۱۲، ۱۶ و ۲۵ و جهت زیست‌ستجی و تعیین میزان بقا بررسی شدند. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار طول کل به میلی‌متر در مراحل PL<sub>1</sub>، PL<sub>5</sub> و PL<sub>15</sub> در تیمار ۳ به ترتیب برابر (۵/۰۶/۴۵ و ۰/۱۸/۴۱) و با اختلاف اندکی از آن، در تیمار ۱ به ترتیب برابر (۵/۰۷/۲۸ و ۰/۱۷/۹۴) بود که نسبت به تیمار شاهد (۰/۰۴/۹۱) در سطح <۰/۰۵> P دارای تفاوت معنی‌داری بوده و تیمار (۱/۰۵/۱۱ و ۰/۱۷/۴۴) و تیمار شاهد دارای تفاوت معنی‌داری نبودند (۰/۰۵ > P). بیشترین مقدار وزن خشک پست لاروهای در روزهای ۱۲ و ۱۶ در تیمار ۳ به ترتیب (۰/۰۸/۹۰ و ۰/۰۹/۴۰) بود که در مقایسه با تیمار شاهد (۰/۰۶/۴۰ و ۰/۰۸/۸۵) دارای تفاوت معنی‌داری بودند (۰/۰۵ < P). بیشترین مقدار بقا به درصد نیز در تیمار ۳ (۳۳/۳۳ و ۷۷/۳۳) و (۰/۰۶/۷۷ و ۰/۰۷/۶۷) محاسبه گردید که نسبت به تیمار شاهد (۰/۰۵/۳۳ و ۰/۰۵/۶۷) تفاوت معنی‌داری داشتند. به هر حال استفاده از این دو فراورده در یک برنامه غذایی مطلوب از مرحله زوای یک تا PL<sub>12</sub> 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 استخراج‌های 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

## مقدمه

افزایش مقاومت در برابر پارازیت‌ها بوده است. در نتیجه نرخ زنده مانی را افزایش می‌دهند (۱۱). برای مثال تنظیم سیستم اینمنی در قزل آلای رنگین کمان با تزریق صفاتی 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).

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

در تحقیقی، آژینات به عنوان محرك و تنظیم‌کننده اینمنی به صورت کپسوله مورد مصرف آرتیما قرار گرفت و سپس به لارو هالیبوت *Hippoglossus hippoglossus* خورانده شد و سبب افزایش مقاومت در برابر بیماری ویبریوزیس گردید (۱۸).

عملیات واکسیناسیون موفق و مؤثر در میگوی بیری (P. japonicus) و میگوی کوروما (*Penaeus monodon*) سیاه (Penaeus japonicus) و میگوی کوروما (*Penaeus monodon*) 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 بیری که در حمام محلول باکترین حاصل از باکتری *V. vulnificus* به مدت ۲ ساعت و

در ۲۰ سال گذشته، همراه با رشد سریع صنعت پرورش میگو، اهمیت بهداشت و همچنین عوامل بیماری‌زا مشخص گردیده است. طبق نظر لایتنر و ردمون 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 بیماری‌زا میکری برای میگو هستند. آنها میکروب‌های آبزی بوده که به طور گسترده در آب‌های شیرین، مصب‌ها و محیط‌های دریایی، پراکنده‌اند و عموماً در تخم سرماهی پرورش میگو، رسوبات و استخراهای پرورش میگو مشاهده می‌شوند (۱۵).

محرك‌های اینمنی، عصاره‌های زیستی و مواد سنتزی می‌باشند که با افزایش عملکرد سلول‌های فاگوسیتیک و فعالیت باکتری‌کشی (Cytotoxic) و نیز با تولید آنتی‌بادی موجب تحریک پاسخ اینمنی می‌گردند (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 محرك سیستم اینمنی در حال توسعه بوده و در حال حاضر مواد زیادی در صنعت آبزی پروری استفاده می‌شوند. اثر تحریک کنندگی گلوکان، کیتین (Chitin)، لاکتوفرین (Lactoferrin) و لوامیزول (Levamisole) برای ماهی و میگو گزارش شده است. همچنین فاکتورهای غذایی مثل ویتامین B<sub>12</sub>، هورمون رشد و پرولاکتین به عنوان محرك اینمنی گزارش شده‌اند. این محرك‌ها، علاوه بر افزایش عملکرد فاگوسیتیزی و افزایش فعالیت باکتری‌کشی، همچنین به عنوان سلول کشنده طبیعی کمپلمان، لیزوژیم و پاسخ آنتی‌بادی را تحریک می‌کنند (۱۶). اثر تحریک کنندگی آژنیک اسید یا ارگوسان در ماهی و میگو گزارش گردیده است (۱۴). از دیگر فواید محرك‌های اینمنی کاهش مرگ و میر، نسبت به پاتوژن‌های فرست‌طلب، کاهش مرگ و میر آبزیان جوان و

آلزینات جهان از *Macrocystis nodosum* و *Ascophyllum pyrifera* عصاره‌گیری می‌شود.<sup>(۱۲)</sup> در پستانداران آلزینات و آلزینیک اسید، اثرات بیولوژیکی مهمی مثل افزایش دفع کلسترول و پذیرش گلوکز<sup>(۱۱)</sup>، جلوگیری از تکثیر سلول‌های ماهیچه‌ای صاف، سرکوب کردن تکثیر سلول‌های فیبروبلاست و تشکیل کلژن در پوست و جلوگیری از آزادسازی هیستامین از ماهیچه دارد.<sup>(۱۰)</sup>

آکواک ارگوسان (*Ergosan Aquavac*) یک محصول کاملاً طبیعی است و به عنوان یک افروندی خوراکی پذیرفته شده است. تنظیم کننده‌ها و تحریک کننده‌های دستگاه ایمنی می‌توانند نقش مهمی در آبری پروری داشته باشند. استفاده از آنها سبب افزایش پاسخ ایمنی غیراختصاصی و بهبود پاسخ ایمنی اختصاصی علیه عوامل بیماری‌زای مختلف می‌گردد. ضمن آنکه می‌توانند پاسخ ایمنی را در حیواناتی که دستگاه ایمنی آنها ضعیف و یا در حال تکمیل است (بچه ماهی، میگوها) افزایش دهد. آکواک ویروماسکس (*Aquavac Vibromax*) نیز، یک محصول امولسیونه بی‌خطر، با استفاده آسان و مؤثر می‌باشد که از طریق خوراکی با استفاده از ناپلی آرتیمیا به عنوان یک ناقل یا واسطه، داده می‌شود.<sup>(۱۷)</sup>

روش جدید استفاده از واکسن آکواک ویروماسکس (غنى‌سازی با ناپلی آرتیمیا) 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.<sup>(۱۷)</sup> این تحقیق، اولین پژوهش در مورد میگو 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 عمدی ای در این مراحل دیده می‌شود، لذا به دلیل امکان بروز بیماری، عدم

غلاظت ۱ میلی‌گرم در لیتر غوطه‌ور بوده‌اند، نسبت به آنها بی که در گروه‌های شاهد بوده‌اند از رشد بهتری برخوردار گردیدند.<sup>(۱۹)</sup>

نتایج مشابه، در میگوهایی که در محلول سوسپانسیون گلوكان با غلاظت ۱، ۵ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر غوطه‌ور بوده‌اند، به دست آمده و حاکی از آن است که مقدار فوق نسبت به غلاظت‌های کمتر مثل ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر و گروه‌های شاهد، رشد بسیار بهتری داشته‌اند.<sup>(۲۰)</sup>

بونیا راتپالین و همکاران گزارش نمودند که میگوهای ببری مورد تغذیه، با غذای مکمل حاوی پیتیدوگلیکان (PG) رشد (FCR=Food Conversion Ratio) بهتر و ضریب تبدیل غذایی (Food Conversion Ratio) بهتری را نسبت به آنها بی که با غذای معمولی تغذیه شدند، داشته‌اند.<sup>(۶)</sup> آثار مدت زمان تغذیه با جیره غذایی حاوی بتا-گلوكان حاصل از مخمر و آلزینیک اسید (ارگوسان) در ماهی سی باس نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی دار 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 بتاگلوكان بود. ولی در بررسی بلند مدت (۴۰ 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 معنی دار، نبوده است.<sup>(۵)</sup> در ماهی Dentex Dentex و ماهی آزاد اطلس نیز، استفاده از ارگوسان در درجه حرارت ۱۴ 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 نمی‌کند می‌تواند اثر مثبتی داشته باشد.<sup>(۵)</sup>

آلزینیک اسید یا ارگوسان از چندین جنس جلبک قهوه‌ای مثل *Ascophyllum Laminaria Macrocystis* می‌تواند مشتق شود.<sup>(۱۷)</sup> ارگوسان مورد استفاده در این پژوهش محتوی یک درصد آلزینیک اسید از جنس *Laminaria digitata* یا *Ascophyllum nodosum* است. با بر نظر لوئیس مهم‌ترین

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 نایپلی‌ها افزوده گردید (۱۷).

ما بقی سیستم‌های کپسول زدائی شده در ظروف دیگری تخم‌گشایی گردید. با این تفاوت که هیچ‌گونه واکسنی به آن اضافه نشد. از ناپلی‌های حاصل از این سیستم‌ها جهت تغذیه سایر تیمارهایی که از واکسن بی بهره بودند نظیر تیمار کترول (شاهد) و تیمار ارگوسان استفاده گردید.

معمولًاً سیستمها پس از ۱۴-۱۸ ساعت تخمگشایی گردیده و همان طور که ذکر شد ۱۰-۱۲ 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 آرتمیاهای حداکثر جذب را انجام داده و جهت تغذیه لاروهای میگویی تیمار اثر واکسن (تیمار ۲) و اثر واکسن + ارگوسان (تیمار ۳) 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 تورهای ۴۰۰ میکرونی مخروطی تنظیفی با آب  
شیرین کاملاً شسته شده<sup>(۳)</sup> و سپس به میزان مورد نیاز در  
اختیار لاروها قرار گرفتند<sup>(۱۷)</sup>.

### ۳- پرورش لاروهای میگوی سفید هندی

جهت فراهم نمودن لاروهای مورد نیاز ۵ مولد ماده پرورشی جفت‌گیری کرده (اسپرم دار) با وزن متوسط ۴۰ گرم 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 تخم ریزی نگهداری شده و آنگاه به سطل‌های ۲۰ لیتری

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 اینمنی 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 آرتیمیای غنی شده در مراحل پرورش لاروی و پست لاروی میگویی سفید هندی، سبب افزایش فاکتورهای رشد و بقا خواهد شد یا تأثیر معنی داری نخواهد داشت و در ادامه میانگین تکرارهای هر تیمار با یکدیگر 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 غذیه‌ای برای مصرف کنندگان ارائه خواهد نمود.

مواد و روش‌ها

۱- محل اجرای آزمایش

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

#### ۲- غنی‌سازی آرتمیا با واکسن ویبرو ماکس

در این آزمایش از سیستم آرتمیا ای فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) Inve شرکت در شده استفاده کردیم. روزانه ۲۰ گرم سیستم که هر گرم آن ۷۰۰۰۰ عدد سیستم بود به وسیله ترازوی با دقت تایلند حاوی ۰/۰۱ گرم، توزین گردیده و به وسیله آب دریای فیلتر شده با شوری ۳۰ ppt و دمای  $30^{\circ}\text{C}$ -۷-۷/۵ pH گردید(۴). حدود نیمی از ناپلی های حاصله پس از تخم گشانی،

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<sup>(۴)</sup>، انجام گرفت. با شروع مرحله مایزیس روزانه حدود ۳۰ درصد آب تعویض گردید که به مرور زمان این مقدار افزایش یافت و در نهایت به حدود ۷۰ درصد رسید<sup>(۲) و (۳)</sup>.

#### ۴- بررسی عملکرد رشد و بقای پست لاروها

در این مرحله، فاکتورهای رشد شامل طول کل (فاصله نوک روستروم تا انتهای تلسون بر حسب میلی‌متر)، وزن خشک (بر حسب 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<sup>(۲)</sup>.

جهت اندازه‌گیری طول کل از میکرومتر چشمی و کولیس استفاده گردید. سنجش وزن خشک نیز 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 دیسیکاتور گذاشته و آنگاه با ترازوی حساس با دقیق 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<sup>(۲) و (۳)</sup>.

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، شوری سنج و ترمومتر دیجیتالی Multi 340i/SET با مارک (WTW) ساخت آلمان انجام گرفت.

که جهت آزمایش تهیه شده بودند، منتقل شدند<sup>(۳)</sup>. 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 ۳۰-۳۲ 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<sup>(۱)، (۲) و (۳)</sup>. در این زمان، لاروها به طور یکسان ۶ نوبت در روز با جلبک (جیره غذایی پایه یکسان در کلیه تیمارها) تغذیه شدند. ناگفته نماند که در انتهای مراحل ناپلیوس تا مرحله زوا I به هر ظرف در هرنوبت غذایی، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول کشت جلبکی (کتوسروس) که به شکوفایی پلاتکتونی رسیده بود اضافه شد و در مراحل بعدی این میزان به ۲۰ میلی‌لیتر در هرنوبت رسید. تراکم جلبکی تقریباً  $10^6 \times 10^6$  PL<sub>15</sub> کم ناپلی بود<sup>(۱)</sup>. پس از مرحله مایزیس I (Mysis I) تا PL<sub>15</sub> کم ناپلی آرتمیا به همراه غذای کنستانتره به غذای لاروها و سپس پست لاروها اضافه گردید. میزان غذادهی با ناپلی آرتمیا در مراحل اولیه ۳-۴ ناپلی به ازای هر پست لارو در هر نوبت بود و در مراحل بعدی به ۸-۱۰ ناپلی به ازای هر لارو افزایش یافت<sup>(۱)</sup>. همچنین با توجه به نوع تیمارها، ارگوسان و واکسن، به صورت جداگانه و توأم بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد<sup>(۱۷)</sup>.

مقادیر مورد نظر ارگوسان و واکسن بر اساس دستورالعمل مؤسسه تولید کننده (Schering-Plough) در دوران لاروی از مرحله زوای II تا PL1 به لاروها و همچنین به مدت ۱۰ روز از زمان PL<sub>2</sub> تا PL<sub>12</sub> به پست لاروها خورانده شد<sup>(۱۷)</sup>. همچنین سعی گردید تا از بروز استرس قبل و بعد از واکسیناسیون جلوگیری شده، میگوها در شرایط بهداشتی خوب نگهداری شوند و در کل دوره پرورش از خوراک خوب و Epac classic با لانس شده تغذیه کنند. غذای پایه PL، از نوع و ترکیب آن شامل ۴۵٪ پروتئین، ۷٪ چربی، ۳٪ فیبر و ۱۰٪ رطوبت بوده که به میزان ۵-۲۰ گرم به ازای هر ۱۰۰۰۰۰ پست لارو در روز و حداقل ۴ بار مورد استفاده قرار گرفت<sup>(۱)</sup>.

که با تیمار ۲ یا گروه میگوهای واکسینه شده اختلاف معنی داری نداشت ( $P > 0.05$ ).

با مقایسه اثر تیمارها بر طول کل پست لاروها در مرحله PL<sub>5</sub> نسبت به تیمار شاهد، میزان طول کل پست لاروها دارای اختلاف معنی دار با یکدیگر می باشد ( $P < 0.05$ ). بیشترین مقدار برای طول کل در این مرحله، مربوط به تیمار ۳ بوده که با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت. همچنین مقایسه میانگین ها به روش دانکن، مؤید آن است که تفاوت معنی دار بین تیمار ۲ و تیمار شاهد وجود ندارد ( $P > 0.05$ ).

در مرحله PL<sub>15</sub> نیز مشخص گردید که میزان طول کل پست لاروها (بر حسب میلی متر) در بین تیمارها دارای اختلاف معنی داری با یکدیگر هستند. بیشترین مقدار برای طول کل مربوط به تیمار ۳ بوده که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی داری است.

-۲- میانگین وزن خشک پست لاروها (بر حسب میلی گرم) در بین تیمارها و مراحل مختلف PL در جدول ۱ آورده شده است.

مقایسه اثر تیمارها بر وزن خشک پست لاروهای مرحله PL<sub>1</sub>، نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار ( $P < 0.05$ ) در میزان وزن خشک پست لاروها (بر حسب میلی گرم) در بین تیمارهای آزمایشی است. بر این اساس بیشترین مقدار وزن خشک به دست آمده مربوط به تیمار ۳ بوده که نسبت به سایر تیمارها دارای تفاوت معنی داری است. در ضمن مقایسه میانگین ها به روش آزمون دانکن، مؤید آن است که تفاوت معنی داری بین تیمار شاهد و تیمار ۲ وجود ندارد.

در مرحله PL<sub>5</sub> نیز میزان وزن خشک پست لاروها (بر حسب میلی گرم) در بین تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی داری با یکدیگر می باشد ( $P < 0.05$ ). بیشترین مقدار به دست آمده مربوط به تیمار ۳ بوده که نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی داری داشت.

در مرحله PL<sub>15</sub> نیز میزان وزن خشک پست لاروها (بر حسب میلی گرم) در بین تیمارها دارای اختلاف معنی داری وجود ندارد. کمترین طول کل پست لاروها در تیمار شاهد بوده

## 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: لاروها بیکار با روشن جاری اکثر تخم سراهای میگو، مورد تغذیه قرار گرفتند.

۲- تیمار ۱ (ارگوسان): لاروها بیکار به جیره غذایی آنها ارجوسان به میزان ۵٪ درصد جیره و ۴ مرتبه در روز اضافه گردید.

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

۴- تیمار ۳ (ارگوسان + واکسن): لاروها بیکار از آرتمیای غنی شده با واکسن به همراه ارجوسان در جیره غذایی خود بهره مند بودند.

داده های اندازه گیری شده با آنالیز واریانس یکطرفه (One Way- ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و سپس توسط آزمون چند دامنه ای دانکن، مقایسه میانگین ها در سطح آماری ۹۵٪ صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از برنامه های EXCEL و SPSS انجام گردید.

## نتایج

۱- میانگین طول کل پست لاروها (بر حسب میلی متر) در بین تیمارها و در مراحل مختلف PL در جدول ۱ ارائه شده است.

در مرحله PL<sub>1</sub> میزان طول کل پست لاروها دارای اختلاف معنی دار با یکدیگر بودند ( $P < 0.05$ ). بیشترین طول کل در این مرحله، مربوط به تیمار ۱ بوده که با تیمار شاهد اختلاف معنی داری دارد. همچنین مقایسه میانگین ها به روش دانکن، نشانگر آن است که اختلاف معنی دار بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ وجود ندارد. کمترین طول کل پست لاروها در تیمار شاهد بوده

جدول ۱. مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و بقا در پست لاروهای میگوی سفید هندی در تیمارهای مختلف

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

(میانگین ± انحراف معیار. اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند و حروف همانند تفاوت آماری

معنی‌دار ندارند ( $P < 0.05$ )).

(تعداد تکرار در هر گروه  $n=3$  می‌باشد).

در مرحله PL<sub>15</sub> نیز اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بین تیمارها وجود دارد. بیشترین مقدار درصد بقا مربوط به تیمار ۳ بوده که نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۲ تفاوت معنی‌داری داشت ولی با تیمار ۱ در یک گروه قرار می‌گیرد. تیمارهای ۲ و شاهد نسبت به هم تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $P > 0.05$ ). (P)

با یکدیگر می‌باشند. بیشترین مقدار برای وزن خشک مربوط به تیمار ۳ بوده که فقط تیمار ۲ با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری است.

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

میانگین درصد بقا پست لاروهای تیمارهای مختلف در مرحله PL<sub>1</sub>، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) و نتایج این آزمون ، بیشترین میزان بقا را به تیمار ۳ نسبت داده که با تیمار شاهد و تیمار ۲ دارای تفاوت معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بوده لیکن با تیمار ۱ تفاوت معنی‌داری نداشت.

در مرحله PL<sub>5</sub> نیز بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P < 0.05$ ). به گونه‌ای که بیشترین میانگین درصد بقا، مربوط به تیمار ۳ بوده که با تیمار شاهد و تیمارهای ۱ و ۲ تفاوت معنی‌داری دارد.

### 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

باشد که در محیط پرورشی میگو به واکسن آغشته شده بودند. در این تحقیق کلیه پارامترهای کیفی آب در دامنه مطلوب جهت تکثیر و پرورش پست لاروی میگویی سفید هندی قرارداشت. دامنه تغییرات دما، ۲۹/۸-۳۱/۸ درجه سانتی گراد، اکسیژن محلول ۵/۷-۶/۲ میلی گرم بر لیتر، pH ۸/۲۰-۸/۳۲ و شوری ۳۱/۹-۳۲/۱ قسمت در هزار بود. نتایج نشان داد که افزودن ارگوسان و واکسن تأثیری بر پارامترهای کیفی آب از جمله اکسیژن محلول، شوری، دما و pH نداشته است. البته به دست آمدن چنین نتایجی چندان غیرمنتظره نبود، چرا که به طور دائمی و ثابت، هواده‌ی در ظروف پرورشی لاروی ها پست لاروها انجام می‌شد.

مونترو و همکاران در سال ۲۰۰۵ با مطالعه‌ای که بر روی میگویی سفید غربی داشته‌اند به این نتیجه رسیدند که اثر واکسن و ارگوسان به صورت توأم، اثر بخشی بهتری داشته که زمان تجویز واکسن را از مرحله PL<sub>4</sub> تا PL<sub>14</sub> 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 (Synergistic) 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 میگویی سفید بالغ بعد از ۱۵ روز شد. به طوری که 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 آرتیمیا جهت غنی‌سازی با دو گونه از باکتری‌های ویبریو عنوان نموده‌اند که این امر به شدت به نوع باکتری مورد استفاده، زمان در معرض قرار دادن آرتیمیا با باکتری و وضعیت باکتری (زنده یا مرده بودن آن) بستگی داشته و در نهایت سبب افزایش رشد و درصد بقا پست

PL<sub>5</sub> تا PL<sub>5</sub> نیز بیشترین رشد و بقا مربوط به تیمار ۳ (واکسن + ارگوسان) بوده و تفاوت آن با تیمار شاهد در سطح ۰/۰۵ P 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 تایید یافته‌های مرحله قبلی می‌باشد. به طوری که از مرحله زوآ II تا PL<sub>1</sub> و همچنین PL<sub>1</sub> تا PL<sub>5</sub> 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<sub>15</sub> نتایج مشابه کسب گردید، یعنی بیشترین مقدار طول کل و وزن خشک مربوط به تیمار ۳ بوده که نسبت به تیمار شاهد و نیز تیمار ۲ تفاوت معنی‌داری داشت. علت این امر غنی سازی آرتیمیا با واکسن و ارگوسان بوده، به علاوه این که 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<sub>2</sub> 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 میگویی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) مورد تغذیه با واکسن + ارگوسان در مراحل PL<sub>1</sub>, PL<sub>5</sub> و PL<sub>15</sub>, انجام گرفت، نشان داد که فاکتورهای رشد و 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 آرتیمیاها بی

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 معنی داری داشت.

۲- برای تغذیه پست لاروهای میگوی سفید هندی از مرحله PL<sub>12</sub> تا PL<sub>2</sub> 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 و جانب آقای دکتر قاسمی و هم‌چنین سازمان دامپزشکی استان هرمزگان که در انجام این تحقیق ما را پاری نمودند، قدردانی می‌گردد.

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 Pseudomonas و Vibrio 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

### 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 رو تیفر 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 رو تیفرهای 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 (*Dicentrarchus 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  $\beta$ -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](http://www.spaquaculture.com)).
  18. Skjermo, J. and Q. Bergh. 2004. High-M alginate immunostimulation of Atlantic halibut (*Hippollossus hippollossus*) 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.