

بررسی کارایی واکسن ویبروماکس خوراکی برافزایش مقاومت به استرسهای شوری و فرمالین در پست لاروهای میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*)

امیر هوشنگ بحری^{۱*}

چکیده

این پژوهش در کارگاه تکثیر هرمز لارو واقع در بخش کوهستک شهرستان میناب در سال ۱۳۸۵ صورت گرفت و کوشش شد کارایی واکسن ویبروماکس و میزان بازماندگی تست های استرس شوری و فرمالین در مراحل پست لاروی PL1, PL5, PL15 و میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) بررسی شود. اثر واکسن ویبروماکس از طریق غوطه وری (تیمار ۲) و غنی سازی ناپلی های آرتمیا (*Artemia franciscana*) (تیمار ۳) و گروه شاهد (تیمار ۱)، جهت مقایسه بررسی گردیدند. این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی، اجرا شد و مقایسه میانگین ها از طریق آزمون دانکن صورت پذیرفت. با در نظر گرفتن ۳ تیمار و ۳ تکرار برای هر یک از آنها، ۹ سطل یکسان بکار گرفته شد که به مقدار ۱۰ لیتر آبگیری و با تراکم ۱۰۰ لارو مرحله زوای یک در لیتر ذخیره سازی گردیدند. دوره آزمایش از مرحله زوای یک تا PL15 بود که در پایان روز ۱۲، ۱۶ و ۲۵ میزان بقا بررسی شدند. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار بازماندگی به درصد برای تست استرس شوری ۱۰ قسمت در هزار در مراحل PL1, PL5, PL15 و ۳ تیمار (۶۸/۰۰، ۷۲/۳۳ و ۷۵/۶۷) بود که نسبت به تیمار شاهد (۴۸/۳۳، ۴۶/۶۷ و ۵۳/۳۳) و تیمار ۲ (۶۰/۰۰، ۶۱/۳۳ و ۶۴/۶۷) در سطح $P < 0.05$ دارای تفاوت معنی داری بوده است. بیشترین مقدار بازماندگی به درصد برای تست استرس شوری ۲۰ قسمت در هزار در تیمار ۳ بترتیب در مراحل مذکور (۸۴/۰۰، ۸۰/۰۰ و ۸۶/۰۰) بدست آمد که در مقایسه با تیمار شاهد (۶۵/۰۰، ۶۵/۳۳ و ۶۶/۰۰) در سطح $P < 0.05$ دارای تفاوت معنی داری بودند و برای تست استرس فرمالین ۱۰۰ قسمت در میلیون نیز در تیمار ۳ (۸۱/۳۳ و ۷۶/۰۰) محاسبه گردید که نسبت به تیمار شاهد (۵۲/۳۳، ۵۶/۶۷ و ۵۸/۶۷) و تیمار ۲ (۷۳/۳۳، ۶۸/۳۳ و ۶۹/۶۷) در سطح $P < 0.05$ تفاوت معنی داری داشتند.

واژگان کلیدی: پست لارو، غنی سازی، واکسن ویبروماکس، میگوی سفید هندی، آرتمیا.

مقدمه

پست لاروها در میگوهای خانواده پنائیده که در تخم سراها امکان پذیر است، استفاده از تست های استرس محیطی از جمله استرس های شوری و فرمالین می باشد (۸). تاکارت و همکاران در سال ۱۹۸۹ استفاده

یکی از روش های مناسب جهت ارزیابی کیفیت

۱- عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندر عباس
*-نویسنده مسئول amirbahri52@yahoo.com

صید، انتقال و حمل و نقل و مقدار آمونیاک (۱۵ppm) در مدت ۲۴ ساعت)، افزایش مقاومت داشته است (۷). گر چه روشن نیست که چرا گلوکان تحمل میگوها را نسبت به استرس ها افزایش می دهد، اما می تواند به میگوها کمک نماید که نسبت به عوامل بیماریزا حساسیت کمتری داشته باشد و بطور قطع می تواند، برای صنعت پرورش میگو مفید باشد (۷).

واکسن ویرومکس^۱ نیز یک محصول امولسیونه بی خطر است که از طریق غنی سازی ناپلی آرتیمیا می تواند به آسانی به تغذیه پست لاروهای میگو برسد.

اطلاعات موجود از چند بررسی نشان میدهد که استفاده از محرک های ایمنی به تهنایی یا بصورت ترکیبی با باکتری های ضعیف شده، منجر به افزایش پاسخ ایمنی و مقاومت نسبت به بیماری های باکتریایی در میگو خواهد شد (۲). 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 می شود، لذا به دلیل امکان بروز بیماری، عدم رشد کافی و تولید کم محصول در شرایط کنونی کشور، یکی از مواردی که می تواند به افزایش رشد و بازماندگی پست لاروهای میگو کمک نماید، دقت در رساندن مواد افزایش دهنده ایمنی و مقاومت در تغذیه میگوها است که با افزایش فاکتورهای رشد نیز همراه است. با توجه به موارد ذکر شده در این پژوهش سعی گردید با فرض اضافه کردن واکسن مورد آزمایش به غذای زنده و دارا بودن خواص مورد نظر، اهدافی شامل رشد بیشتر، بازماندگی و در صد بقاء بالاتر و افزایش تولید بدست آید، که نتایج قابل قبول در مدت تحقیق حاصل گردید.

مواد و روشها

۱- محل اجرای آزمایش

این پژوهش در کارگاه تکثیر هرمز لارو وابسته به بخش خصوصی واقع در ۳۵ کیلومتری شهرستان میناب

از تست های استرس را به عنوان یک ابزار در ارزیابی کیفیت پست لارو ماهیان و سخت پوستان پیشنهاد نمودند (۹). عده ای نیز گزارش کرده اند که پست لاروهایی که در شرایط تست های استرس، بازماندگی بیشتری از خود نشان می دهند دارای کیفیت بهتر می باشند (۳ و ۴)، به عنوان مثال، مطالعات فراوانی شامل جیره های غذایی با مقادیر فراوان اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره جهت بازماندگی بالاتر پست لاروها در تست های استرس در مرحله پست لاروی گزارش و پیشنهاد شده است (۳ و ۹).

افزایش ایمنی غیر اختصاصی در میگوها، آنها را نسبت به طیف وسیعی از توانایی دفاعی تأمین نموده که می بایست بطور مؤثری آنها را در مقابل عفونتهای ناشی از عوامل بیماری زا، مصون دارد. استفاده خوراکی، حمام دادن و تزریق مواد محرک ایمنی، از قبیل باکتری ویبریو، بتا گلوکان^۱ و پپتید و گلیکان^۲ به میگوها، می تواند، مقاومت آنها را در مقابل آلودگی های میکروبی افزایش دهد (۶).

تحقیقات در زمینه مواد محرک سیستم ایمنی در حال توسعه است و مواد زیادی در حال حاضر در صنعت آبی پروری استفاده می شود. اثر تحریک کنندگی گلوکان، کیتین^۳، لاکتوفرین^۴ و لوامیزول^۵ برای ماهی و میگو گزارش شده است. همچنین فاکتورهای غذایی مثل ویتامین C, B هورمون رشد و پرولاکتین به عنوان محرک ایمنی گزارش شده اند. این محرک ها، علاوه بر افزایش عملکرد فاگوسیتوزی و افزایش فعالیت باکتری کشی، همچنین فعالیت سلول های کشنده طبیعی کمپلمان، لیزوزیم و پاسخ آنتی بادی را تحریک می کنند (۵).

آستانه مقاومت میگوهایی که توسط گلوکان تغذیه گردیدند، به مقدار نسبی، نسبت به استرس ها از قبیل

- 1- β glucan
- 2- Peptidoglycan
- 3- Chitin
- 4 -Lactoferin
- 5 -Levamisole

انتخاب و استفاده شد که در قالب یک طرح کاملاً تصادفی ایجاد و اجرا گردید.

درصد بازماندگی پست لاروها در تست های استرس فرمالین خالص ۱۰۰ ppm و شوری ۱۰ ppt و ۲۰ ابتدا تحت آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) قرار گرفته و سپس توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن، مقایسه میانگین‌ها صورت گرفت و وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دارد در سطح ۰/۰۵ تعیین گردید. سرانجام کلیه تجزیه و تحلیل داده‌ها برای داده های بدست آمده با استفاده از برنامه‌های ۱۲ SPSS و EXCEL انجام گردید.

نتایج

درصد بازماندگی پست لاروها در اثر تست های استرس، در مراحل PL5, PL1 و PL15
 ۱- درصد بازماندگی پست لاروها در اثر تست استرس شوری ۱۰ قسمت در هزار

میانگین درصد بازماندگی پست لاروها در اثر تست استرس شوری ۱۰ قسمت در هزار در مدت زمان ۶۰ دقیقه در مراحل و تیمارهای مختلف در جدول (۱) ارائه شده است.

۲- درصد بازماندگی پست لاروها در اثر تست استرس شوری ۲۰ قسمت در هزار

میانگین درصد بازماندگی پست لاروها در اثر تست استرس شوری ۲۰ قسمت در هزار در مدت زمان ۶۰ دقیقه در مراحل و تیمارهای مختلف در جدول (۱) ارائه گردیده است.

۳- درصد بازماندگی پست لاروها در اثر تست استرس فرمالین خالص ۱۰۰ قسمت در میلیون

میانگین درصد بازماندگی پست لاروها در اثر تست استرس فرمالین خالص ۱۰۰ قسمت در میلیون در زمان ۶۰ دقیقه در مراحل و تیمارهای مختلف در جدول (۱) ارائه گردیده است.

جدول شماره ۱ - مقایسه میانگین درصد بقاء پست لاروهای میگوی سفید هندی در تیمارهای مختلف ناشی از تست استرس شوری های مختلف و مواجهه با فرمالین در مدت ۶۰ دقیقه

PL5-PL15 (انحراف استاندارد ± میانگین)	PL1-PL5 (انحراف استاندارد ± میانگین)	ZOA1-PL1 (انحراف استاندارد ± میانگین)	مراحل مختلف	نوع استرس تیمارهای مورد مقایسه در هر شاخص
۵۳/۳۳ ± ۵/۰۳ ^c	۴۶/۶۷ ± ۴/۱۶ ^c	۴۸/۳۳ ± ۲/۵۲ ^c	تیمار ۱ (شاهد)	شوری ۱۰ ppt
۶۴/۶۷ ± ۳/۰۶ ^b	۶۱/۳۳ ± ۶/۱۱ ^b	۶۰/۰۰ ± ۲/۰۰ ^b	تیمار ۲	
۷۵/۶۷ ± ۲/۰۸ ^a	۷۲/۳۳ ± ۳/۰۶ ^a	۶۸/۰۰ ± ۴/۰۰ ^a	تیمار ۳	
۶۶/۰۰ ± ۳/۶۱ ^c	۶۵/۳۳ ± ۶/۴۳ ^b	۶۵/۰۰ ± ۳/۰۰ ^c	تیمار ۱ (شاهد)	شوری ۲۰ ppt
۷۳/۰۰ ± ۱/۷۳ ^b	۷۳/۰۰ ± ۱/۷۳ ^{ab}	۷۶/۳۳ ± ۳/۷۹ ^b	تیمار ۲	
۸۶/۰۰ ± ۲/۶۵ ^a	۸۰/۰۰ ± ۲/۰۰ ^a	۸۴/۰۰ ± ۱/۰۰ ^a	تیمار ۳	
۵۸/۶۷ ± ۳/۰۶ ^c	۵۶/۰۰ ± ۳/۴۶ ^b	۵۲/۳۳ ± ۲/۰۸ ^c	تیمار ۱ (شاهد)	فرمالین خالص ۱۰۰ ppm (%)
۶۹/۶۷ ± ۲/۰۸ ^b	۶۸/۳۳ ± ۶/۵۱ ^a	۷۳/۳۳ ± ۴/۵۱ ^b	تیمار ۲	
۸۳/۳۳ ± ۵/۰۳ ^a	۷۶/۰۰ ± ۳/۴۶ ^a	۸۱/۳۳ ± ۳/۰۶ ^a	تیمار ۳	

(میانگین ± انحراف معیار) سطوح اختلاف توسط حروف a, b و c نشان داده شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق در تست استرس فرمالین ۱۰۰ قسمت در میلیون و تست شوری ۱۰ و ۲۰ قسمت در هزار در مرحله PL1 بیشترین بازماندگی در تیمار ۳ وجود داشته که تفاوت آنها با تیمار ۱ (شاهد) معنی دار بود. علت این امر غنی سازی آرتمیا با واکسن بوده، بعلاوه اینکه اندازه مناسبتر و در صد باز ماندگی بالاتر لاروها در این تیمار قابل ذکر است. همانطور که نتایج این تحقیق نشان داد، لاروهایی که از نظر رشد وضعیت بهتری داشتند، در برابر تستهای فرمالین نیز مقاومت بهتری را از خود نشان دادند (۱).

همچنین در تست استرس فرمالین و شوری، با افزایش سن پست لاروها، میزان باز ماندگی آنها افزایش یافته است. به طور کلی باز ماندگی تیمارها در مرحله PL15 بیشتر از PL5 و به دنبال آن، PL5 بیشتر از PL1 بوده است.

در این مرحله از رشد میگوها (از مرحله PL2 به بعد) به علت اینکه خاصیت پالایش گری میگوها از بین رفته و میگوها کم کم حالت شکارچی به خود می‌گیرند، بنابراین افزودن واکسن به غذای زنده می‌تواند اثرات مستقیم بهتری به بازماندگی و مقاومت در برابر تنش‌های اسمزی داشته باشد.

نتایج این پژوهش نشان داد که تغذیه لاروهای میگوی سفید هندی با غذاهای زنده که از طریق واکسن، غنی سازی گردیده، موجب افزایش مقاومت پست لاروها در برابر استرس‌های شوری و فرمالین می‌گردد، که این مورد در هر سه مرحله PL1 و PL5 و PL15 به چشم می‌خورد. در تست استرس فرمالین و همچنین شوری ۱۰ و ۲۰ قسمت در هزار که در مراحل سه گانه PL1 و PL5 و PL15 انجام شد بیشترین بازماندگی در تیمار ۳ و پس از آن در تیمار ۲ مشاهده گردید.

تیمار شاهد نیز به علت غنی نشدن ناپلی آرتمیاهای مورد تغذیه با واکسن، دارای کمترین درصد بازماندگی در این مراحل بودند و بطور کلی تفاوت معنی داری

در سطح ۰/۰۵ بین تیمارهای آزمایش دیده شد.
($P < 0/05$)

تقدیر و تشکر

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

منابع

- ۱- آذری تاکامی، ق. طبیعی، ا. شکوری، م. آق، ن. (۱۳۸۳): تاثیر اسیدهای چرب بلند زنجیره امگا ۳ در افزایش مقاومت بچه میگوهای سفید هندی در برابر تنش اسمزی. مجله منابع طبیعی ایران جلد ۵۷ شماره ۳: صفحه ۴۵۵ - ۴۶۶
- 2- Montero rocha, A., Mcintosh ,D., Sanchez-merino, R, and Felores,i., (2005): Immunostimulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following dietary administration of Ergosan . Journal of Invertebrate Pathology 91 (2006) ,188-194 pp.
- 3- Rees , J . F . , Cure , K . , Piyatiratitivorakul , S . , Sorgeloos , P . and Menasveta , P . , (1994): Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae : An experimental approach based on Artemia enrichment . Aquaculture , 122 : 193 – 207
- 4- Samocha , T . M . , Guajardo , H . , Lawrence , A . L . , Castille , F . L . , Speed , M . ; Mckee , D . A . and Page , K . I . , (1998) : A simple stress test for *Penaeus vannamei* postlarvae . Aquaculture 165 : 233 – 242 .

- 5- Sakai, M., (1998) : Current research status of fish immunostimulants , Aquaculture 172 (1999) ,63-92pp.
- 6- Schering, plough animal health Aquaculture Corporation., (2005): Union, newjersey .Brifes about Aquavac Ergosan and Aquavac Garvetil vaccine. (www. Spaquaculture.com) .
- 7- Song , Y.L ,J.J. Liu, L.C. Chan and H.H. Sung., (1997): Glucan – induced disease resistance in tiger shrimp (*penaeus monodon*). In Fish vaccinology (R.Gudding , A , Lillehaug, P.J. Midtlyng and F. Brown , eds.), Deve Biol Stamd. Basel , Karger , 90 : 413 – 421.
- 8- Tackaert , W . , Abelin , P . , Leger , P. and Sorgeloos , P . ,(1992):Stress resistance as a criterium to evaluate quality of postlarval shrimp reared under different feeding procedures . In : Pessoa , J . (Ed.), proc . III simposio Brasileiro sobre cultivo de camarao , MCR Aquaculture , Brasil , pp . 393 – 403 .
- 9- Tackaert , W . , Abelin , P . , Dhert , P . ,Leger , P . ,Grymonpre , D . , Bombeo , R . and Sorgeloos , P . ,(1989): Stress resistance in postlarval penaeid shrimp reared under different feeding procedures . Aquaculture 89 . World Aquaculture Society , LosAngeles , pp . 1 – 15 .