Journal of Aquatic Ecology
Volume14, Issue 1
Pages:13-22

Evaluation of the effect of indigenous probiotic administration on gut bacterial diversity of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*

Zeinab Chatrrooz[1], Iman Sourinejad[1], Mohsen Gozari[2]

1. Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

2. Department of Microbiology, Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran

Article Info

Article type: Research

Article history:
Received: 18 January 2024
Accepted: 9 April 2024
ePublished: 26 May 2024

* Corresponding Author:
sourinejad@hormozgan.ac.ir

Keywords:
Gut microbiome, Probiotic, Pacific white shrimp, Bacteria genetic identification.

ABSTRACT

The objective of this study was to assess the impact of a native probiotic product on the intestinal bacteria biodiversity of *Penaeus vannamei*. Shrimp larvae were administered the probiotic via food (treatment 1), through culture water (treatment 2), and a control group received no probiotics (treatment 3). After three months of rearing, bacteria were isolated from the shrimp intestines, and initial identification was conducted based on morphological, biochemical, and physiological traits. The diversity of intestinal bacterial flora was assessed using PCR-RFLP methods, focusing on the determination of 16S rRNA gene sequences. Results revealed a significantly higher abundance of cultivable bacteria in the intestines of shrimp from treatment 1 (2.4 x 107 CFU/gr) compared to those receiving probiotics through water (6.16 x 106 CFU/gr). The probiotic product led to a reduction in bacterial diversity in the intestines of treated shrimp, decreasing from 10 to 6 genera. Additionally, the frequency of *Vibrio* bacteria decreased by 20%, while other opportunistic pathogenic bacteria such as *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Shewanella*, and *Photobacterium* were eliminated. Overall, the findings suggest that administering probiotics through food was more effective in modulating the diversity of the shrimp intestinal microbiome. This study enhances our understanding of the impact of indigenous probiotics on the composition and dynamics of the intestinal microbiome of *P. vannamei*.

CC BY NC

Publisher: University of Hormozgan.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

بوم‌شناسی آبزیان
شاپا چاپی: ۲۷۵۱-۲۳۲۲ شاپا الکترونیکی: ۹۳۵۵-۲۹۸۰
https://jae.hormozgan.ac.ir

ارزیابی تاثیر فراورده پروبیوتیک بومی بر تنوع زیستی باکتری‌های روده میگوی سفید غربی *Penaeus vannamei*

زینب چتر روز[۱]، ایمان سوری نژاد*[۱]، محسن گذری[۲]

۱. گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲. بخش میکروبیولوژی، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۲۱
تاریخ چاپ الکترونیک: ۱۴۰۳/۰۳/۰۶

*** نویسنده مسئول:**
sourinejad@hormozgan.ac.ir

کلیدواژه‌ها:
میکروبیوم روده،
پروبیوتیک،
میگوی سفید غربی،
شناسایی ژنتیکی باکتری.

چکیده

در مطالعه حاضر ارزیابی تاثیر فراورده پروبیوتیک بومی بر تنوع زیستی باکتری‌های روده میگوی سفید غربی *Penaeus vannamei* بررسی شد. پست لاروهای میگو در ۳ تیمار شامل افزودن پروبیوتیک بومی به جیره غذایی (تیمار ۱)، افزودن پروبیوتیک بومی در آب تانک (تیمار ۲) و پرورش میگو بدون استفاده از پروبیوتیک در جیره غذایی یا آب (تیمار ۳) به مدت ۳ ماه تغذیه شدند. پس از نمونه برداری، جداسازی باکتریها از روده میگو و شناسایی اولیه بر اساس ویژگی های شاخص مورفولوژیک، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک انجام شد. تنوع زیستی فلور باکتریایی روده با استفاده از روش های PCR-RFLP و تعیین توالی ژنrRNA 16S سنجش شد. نتایج نشان داد فراوانی باکتری-های قابل‌کشت در روده میگوهای تیمار ۱ ($۴/۲ \times ۱۰^{۷}$ CFU/gr) از میگوهای دریافت کننده تیمار ۲ ($۶/۱۶ \times ۱۰^{۶}$ CFU/gr) بیشتر بود. فراورده پروبیوتیک تنوع باکتریایی در روده میگوهای تغذیه شده را از ۱۰ جنس مختلف به ۶ جنس و فراوانی باکتری‌های *Vibrio* را به میزان ۲۰ درصد کاهش داده و سایر باکتری‌های بیماریزای فرصت طلب شامل *Pseudomonas*، *Aeromonas*، *Shewanella* و *Photobacterium* را در روده میگو حذف نمود. در مجموع نتایج نشان داد دریافت پروبیوتیک از طریق غذا کارایی بالاتری در تعدیل تنوع میکروبیوم روده میگو داشت و درک بهتری از تاثیر پروبیوتیک بومی بر ترکیب و پویایی میکروبیوم روده میگوی سفید غربی فراهم نمود.

ناشر: دانشگاه هرمزگان.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

مقدمه

آبزی‌پروری یکی از سریع‌ترین و بزرگترین بخش‌های تولید مواد غذایی است که نقش مهمی در ارائه فرصت‌های معیشتی پایدار و امنیت غذایی برای جمعیت جهان ایفا می کند (Dawood *et al*., 2020). توسعه فناوری های جدید از قبیل فراورده های پروبیوتیک ها در تسهیل رشد صنعت آبزی‌پروری مورد توجه قرار گرفته است. میگوی سفید غربی *Penaeus vannamei* یک گونه میگوی مهم تجاری است که ۸۰ درصد از تولید جهانی میگو را تشکیل می‌دهد. تولید جهانی میگوی سفید غربی به سرعت افزایش یافته و به ۴۴۵ میلیون تن در سال ۲۰۱۷ رسیده است که ارزش کل آن ۲۶/۷ میلیارد دلار برآورد شده است (FAO, 2019). با تقاضای بالای بازار برای میگوی سفید غربی و پرورش متراکم و فوق متراکم آن، مشکلات جدی مانند شیوع بیماری‌های عفونی توسط باکتری ها شایع شده است. به طور خاص، باکتری *Vibrio* شایع‌ترین باکتری بیماریزا در پرورش میگو است که تأثیر جدی بر بقا، پاسخ‌های ایمنی و کاهش تولید دارد (Won *et al*., 2020). ظهور بیماری‌های عفونی در پرورش میگو باعث استفاده نادرست از عوامل آنتی بیوتیکی می شود (Zokaeifar *et al*., 2012). آنتی بیوتیک‌ها به عنوان عوامل شیمی درمانی برای میگو استفاده می‌شوند زیرا می‌توانند طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها را تحت تاثیر قرار دهند. با این حال، استفاده بیش از حد از آنتی بیوتیک‌ها می‌تواند منجر به بروز مقاومت باکتریایی شود. علاوه بر این، استفاده از آنتی بیوتیک ها در پرورش میگو به دلیل خطرات و پسماندهای شیمیایی برای مصرف کنندگان انسانی مخاطرات بالقوه ای ایجاد کرده است (Won *et al*., 2020) در نتیجه، مطالعات در مورد جایگزین‌های احتمالی برای آنتی بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری میگو در حال انجام است .پروبیوتیک‌ها رویکردهای ایمنی هستند که به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک در شیوه‌های مختلف پرورش میگو مورد استفاده قرار می‌گیرند و نقش مهمی در پیشگیری از بیماری و حفظ تعادل میکروبی برای بهبود مکانیسم‌های دفاعی و پاسخ‌های ایمنی ذاتی دارند (Maeda *et al*., 2014). نتایج مطالعات اخیر نشان داده است استفاده از جنس‌های مختلف باکتریها مانند *Bacillus*، *Enterococcus* و *Lactobacillus* منجر به تعدیل میکروبیوتای روده، تقویت پاسخ ایمنی، بهبود رشد و فعالیت آنزیم گوارشی در میگو شده است. به عنوان مثال، در میگوی سفید غربی می توان به پروبیوتیک‌های مخلوط گونه های *Bacillus subtilis*، *Bacillus licheniformis* و *Lactobacillus sp* اشاره نمود که مزایایی برای میزبان خود از جمله افزایش رشد و ایمنی غیر اختصاصی، تغییر مورفولوژی روده، و تعدیل میکروبیوتای روده نشان داده اند (Zhang *et al*., 2023). بنابراین، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تاثیر یک فراورده پروبیوتیک بومی بر تنوع زیستی باکتری‌های روده میگوی سفید غربی انجام شد.

مواد و روش کار

آزمایش‌های مطالعه حاضر با استفاده از ۹ عدد تانک پلی اتیلن ۳۰۰ لیتری با سطح ۱ متر مربع در بخش آبزی پروری پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان در فضای سرپوشیده انجام شد. پرورش پست لاروهای میگوی سفید غربی از مرحله پست لارو ۱۵ به مدت ۳ ماه با تراکم ۱۰۰ پست لارو در متر مربع در قالب ۳ تیمار شامل افزودن پروبیوتیک بومی در جیره غذایی (تیمار ۱)، افزودن پروبیوتیک بومی در آب تانک (تیمار ۲) و بدون استفاده از پروبیوتیک (تیمار ۳) انجام شد. هر تیمار دارای سه تکرار بود و تعویض آب در تانک‌ها به صورت محدود و هر ۱۰ روز یکبار انجام می‌شد. پست لارو میگوی سفید غربی از کارگاه تکثیر میگو (سنتدرف) واقع در بندر جاسک و غذای میگو از شرکت فرادانه خریداری شد. پروبیوتیک بومی مورد استفاده محصول طرح تحقیقاتی پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان حاوی کنسرسیومی از سویه های مختلف Bacillus بود. تغذیه میگوها ۴ بار در روز انجام گرفت. برای تغذیه میگوها از غذای پلت پیش آغازین و آغازین ساخت شرکت فرادانه حاوی ۴۰٪ پروتئین و ۱۰٪ چربی

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

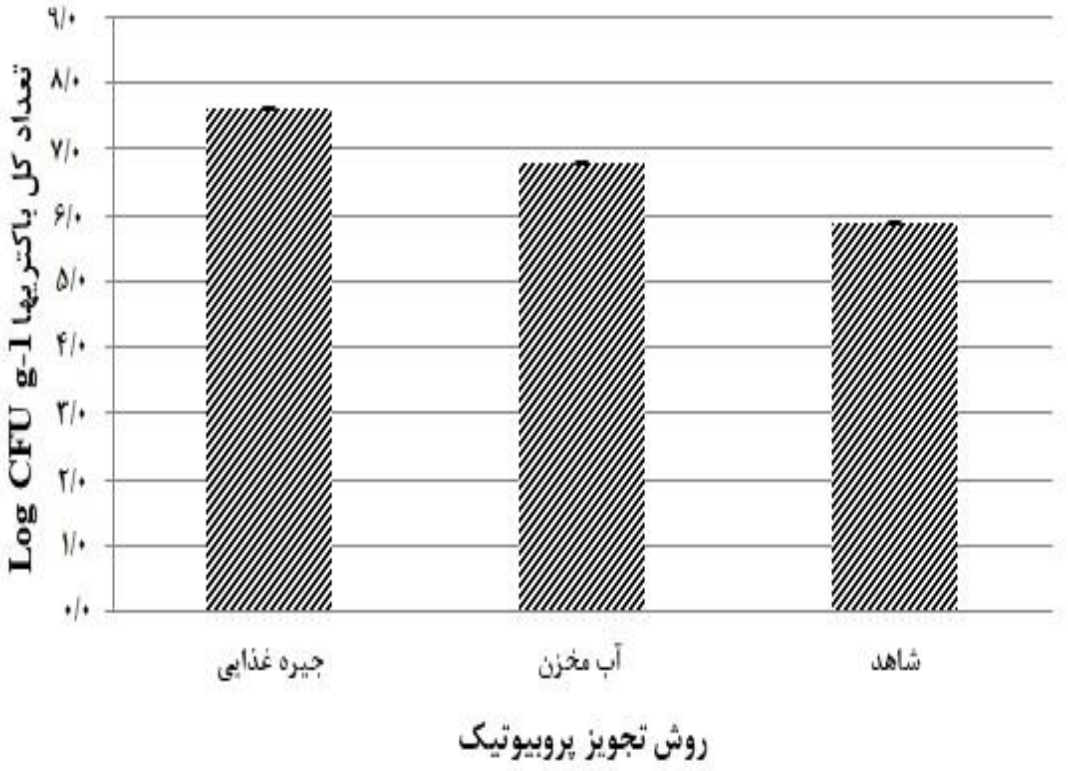
استفاده شد. میزان تغذیه بر اساس جدول غذادهی میگو، روزانه بین ۱۵–۱۰ گرم بر اساس هر ۱۰۰ عدد پست لارو بود. این میزان با توجه به رشد میگو به ۲۰– ۱۵ گرم بر اساس هر ۱۰۰ عدد پست لارو افزایش یافت. فراورده پروبیوتیک تولید شده توسط پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان بر اساس دستورالعمل تولید کننده جهت تغذیه میگو در تیمار ۱ مورد استفاده قرار گرفت. این محصول تجاری سازی شده حاوی CFU/kg ۱۰۸ ×۱/۵ پروبیوتیک آغشته شده به خوراک میگو بود. برای اجرای تیمار ۲ از محصول پروبیوتیک مایع استفاده شد. این فراورده حاوی CFU/mL ۱۰۸ ×۱/۵ پروبیوتیک بود که بر اساس دستورالعمل تولید کننده غلظت نهایی آن جهت استفاده به CFU/L ۱۰۸ ×۱/۵ در آب مخزن پرورش رسانده شد. فراورده پروبیوتیک میگو حاوی پروبیوتیک تا یک هفته قبل از نمونه برداری ۴ نوبت به بصورت روزانه تجویز شد. در پایان دوره آزمایش از هر تیمار ۹ عدد میگو به صورت تصادفی جهت آزمون انتخاب شد. پس از ضدعفونی کردن سطح بدن میگوها و شستشو با آب مقطر، به منظور خارج کردن روده میگو کالبد شکافی شده و پس از شستشوی سطحی با آب مقطر استریل رقیق سازی انجام شد. نمونه های آماده شده روی محیط کشت Zobell agar تلقیح و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرما گذاری شدند. سپس کلونی های باکتریایی رشد یافته پس از خالص سازی بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک بصورت اولیه شناسایی شدند (Davis, 2014). این آزمون های اولیه شامل ویژگی‌های مورفولوژیک ماکروسکوپی (رنگ، شکل، اندازه کلونی‌ها) و میکروسکوپی (واکنش گرم و شکل باکتری و وضعیت اسپور)، ویژگی های شاخص بیوشیمیایی از قبیل مصرف برخی منابع کربن و نیتروژن، تولید آنزیم‌های تشخیصی و همچنین ویژگی‌های فیزیولوژیک از قبیل رشد در شرایط دماها، pHها و شوری‌های مختلف شناسایی اولیه انجام شد. بعد از تعیین باکتریهای متمایز به منظور شناسایی ژنتیکی آنها استخراج DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA (سیناکلون، ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت انجام شد. تکثیر ژن 16S rRNA در مورد باکتری‌ها با استفاده از واکنش PCR انجام شد (Woo *et al.*, 2003; Paz *et al.*, 2007). پس از اتمام PCR، فرایند RFLP روی توالی تکثیر شده با استفاده از آنزیم های محدودکننده TaqI و MspI انجام شد. بدین منظور ۳ میکرولیتر از محصول PCR با ۱ میکرولیتر بافر Tango ۱۰X ، ۱ میکرولیتر سرم گاوی A (BSA) و ۵ واحد آنزیم MspI مخلوط شد. سپس نمونه تیمارشده با آنزیم TaqI در ۶۵ درجه سلسیوس درون ترمومیکسر به مدت ۳ ساعت گرماگذاری شد. نمونه تیمارشده با آنزیم MspI در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت قرار داده شد (Jiang *et al.*, 2008). بدنبال آن نمونه های تیمار شده روی ژل آگارز ۱/۵ درصد بارگذاری شدند. پس از انجام الکتروفورز الگوی تنوع زیستی باکتری های جداشده تعیین گردید و الگوی های متفاوت برشی جهت تعیین توالی به شرکت سیناکلون ارسال شد. میزان تشابه جدایه‌های تعیین توالی شده با استفاده از نرم افزار Megablast ارائه شده در پایگاه ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI) انجام شد.

نتایج

تاثیر تجویز پروبیوتیک بر فراوانی باکتری‌ها در روده میگو

نتایج شمارش باکتری‌های قابل کشت در روده میگو بیانگر تفاوت معنادار فراوانی باکتری‌ها در تیمارهای دریافت کننده پروبیوتیک از طریق جیره غذایی، آب و نمونه شاهد بود. این نتایج نشان داد بیشترین فراوانی باکتری‌های قابل کشت در روده میگوهای دریافت کننده پروبیوتیک از طریق غذا با میانگین CFU/gr ۱۰۷ × ۴/۲ ثبت شد. میزان فراوانی باکتری‌های قابل کشت در روده میگوهای دریافت کننده پروبیوتیک از طریق آب به میزان CFU/gr ۱۰۶ × ۶/۱۶ بود. در حالی که در تیمار شاهد بدون تجویز پروبیوتیک این میزان CFU/gr ۱۰۶ × ۷/۵۶ شمارش شد (شکل ۱).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]



شکل ۱. ارزیابی تاثیر نحوه تجویز پروبیوتیک بر تعداد کل باکتری‌های قابل کشت در روده میگو. نمونه شاهد: بدون تجویز پروبیوتیک

شناسایی مورفولوژیک، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک

شناسایی فنوتیپی ۲۲۵ کلونی باکتری جداسازی شده از روده میگو بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک نشان داد ۵۰ جدایه دارای ویژگی‌های فنوتیپی متفاوت بودند. از این میان ۳۴ جدایه دارای خصوصیات مشترک با جنس های Bacillus، Pseudomonas، Vibrio و Alteromonas بودند. همچنین ویژگی های فنوتیپی ۱۶ جدایه قابل انتساب به جنس‌های مذکور نبود (جدول ۱).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

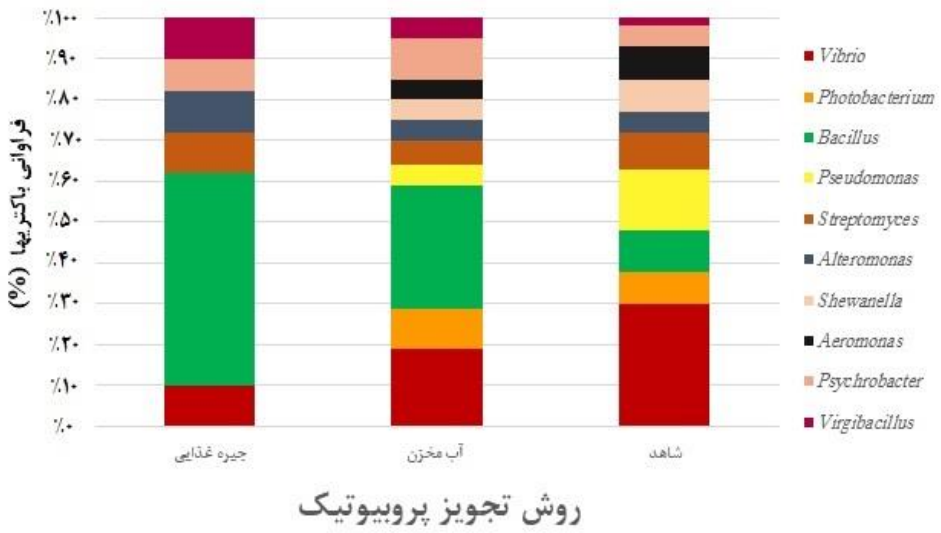
جدول ۱. ویژگی‌های فنوتیپی جنس‌های غالب شناسایی شده

مشخصه	*Bacillus*	*Pseudomonas*	*Alteromonas*	*Vibrio*
واکنش گرم	+	–	-	-
شکل میکروسکوپی	میله ای	میله ای	میله ای	میله ای، خمیده
رنگ کلونی	سفید	سفید	سفید	سفید
اسپور	+	–	–	–
حرکت	+	+	+	+
اکسیداز	+	+	+	+
اکسیداسیون تخمیر	+/-	+/+	+/-	+/+
کاتالاز	+	+	+	+
ایندول	–	–	-	+
سولفید هیدروژن	+	–	–	–
احیا نیترات	+	+	+	–
وژ–پروسکوئر	+	–		
ژلاتین	+	–	+	
سیترات	–	+	+	+
آرژینین دهیدرولاز	–	–	–	+
اورنیتین دکربوکسیلاز	–	–	–	–
لیزین دکربوکسیلاز	–	–	–	–
رنگدانه	-	–	–	–
دمای رشد (°C)	۱۵–۴۵	۴–۴۵	۱۰–۴۴	۱۰–۴۴
تحمل شوری (ppt)	۰–۱۲	۰–۸	۱–۱۰	۱–۱۰
محدوده pH	۵–۱۰	۵–۹	۵–۱۰	۵–۹

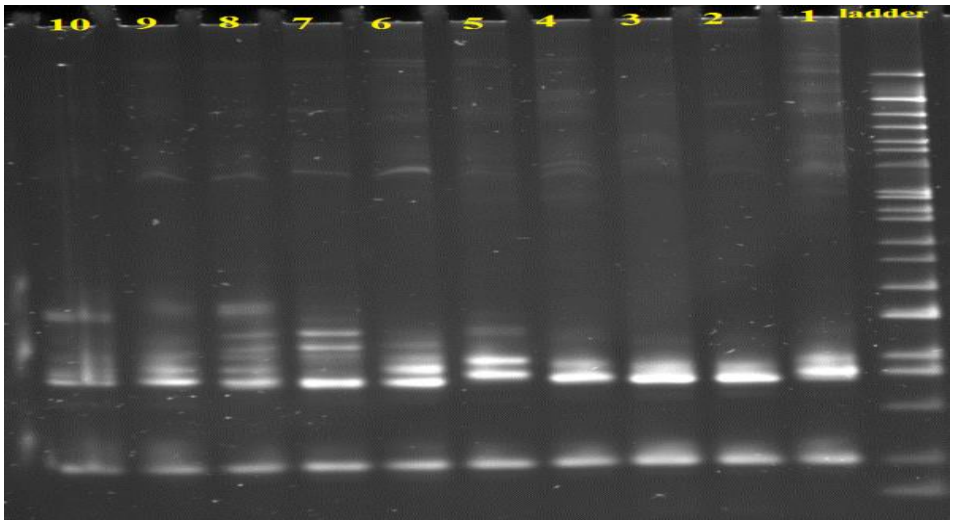
الگوی تنوع زیستی باکتری‌های روده میگو

الگوی تنوع زیستی باکتریهای جداسازی شده از روده میگوهای دریافت کننده پروبیوتیک بیانگر تعلق آنها به ۶ جنس مختلف بود (شکل ۲). در حالی که این الگوی حاصل از PCR-RFLP نشان داد باکتریهای موجود در روده میگوهای دریافت کننده پروبیوتیک از طریق آب و نمونه‌های شاهد به ۱۰ جنس متفاوت تعلق داشتند (شکل ۳). بیشترین فراوانی باکتریها در روده میگوهای دریافت کننده پروبیوتیک از طریق غذا به جنسBacillus به میزان ۵۲ درصد تعلق داشت در حالی‌که در میگوهای دریافت کننده پروبیوتیک از طریق آب فراوانی جنس Bacillus در نمونه‌های روده ۳۰ درصد ثبت شد. در حالی که تنها ۱۰ درصد باکتریهای جداسازی شده از روده میگوهای تیمار شاهد حاوی جنس Bacillus بود.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]



شکل ۲. الگوی تنوع زیستی باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌های روده میگو در تیمارهای مختلف



شکل ۳. شناسایی سویه‌های جداشده از روده میگو با استفاده از تکنیک RFLP. الگوهای برشی متفاوت با شماره‌های مختلف نشان داده شده است.

مطالعات فیلوژنتیک باکتریهای جداسازی شده از روده میگو

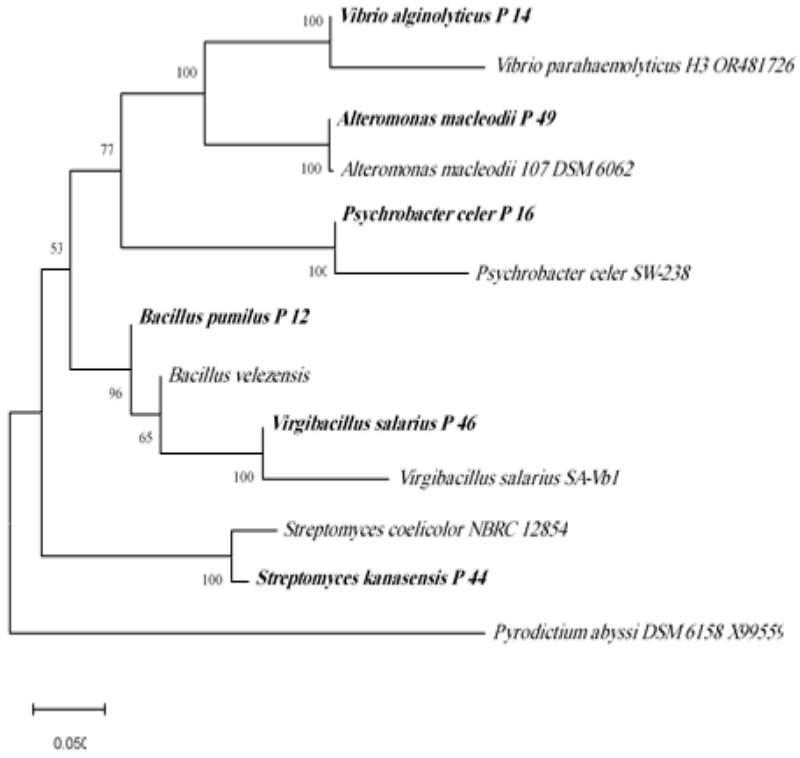
نتایج مطالعات فیلوژنتیک جدایه های متعلق به ۶ جنس متمایز جدا شده از روده میگوهای دریافت کننده پروبیوتیک نشان داد توالی 16S rRNA آنها با سویه های ثبت شده در بانک ژن NCBI به میزان ۹۸ تا ۹۹ درصد تشابه داشتند (جدول ۲). توپولوژی درخت فیلوژنتیک ترسیم شده نشان داد این درخت در بر گیرنده ۲ کلاد مختلف با الگوی خوشه زایی متفاوت بود. کلاد نخست در برگیرنده ۲ خوشه اصلی که در خوشه نخست جنس های Vibrio، Alteromonas و Psychrobacter در یک زیر خوشه و Bacillus و Virgibacillus در زیر خوشه دوم بود. این الگوی خوشه زایی نشان داد جدایه های P 14 و P 16 در مقایسه با نزدیکترین سویه

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

ثبت شده مسیر تکاملی متفاوتی را متحمل شده اند. در حالیکه جدایه P 49 با نزدیکترین سویه خود از یک خط تکاملی مشترک اشتقاق یافتند. در زیر خوشه دوم نیز جدایه های Bacillus و Virgibacillus علی‌رغم اشتقاق از یک منشاء واحد دارای الگوی شاخه زایی متفاوت بودند. این الگو بیانگر اشتقاق گونه های Virgibacillus جداسازی شده بعد از سویه های Bacillus بود. در کلاد دوم سویه P 44 با سویه ثبت شده Streptomyces coelicolor در یک خوشه قرار گرفت و از یک جد مشترک اشتقاق یافتند.

جدول ۲. مقایسه میزان تشابه توالی ژن 16S rRNA جدایه های متمایز با نزدیک ترین سویه ها در NCBI

نام جدایه	نزدیکترین سویه ثبت شده در *NCBI*	میزان تشابه (%)
Vibrio alginolyticus P 14	*Vibrio parahaemolyticus H3*	۹۹/۸۱
Alteromonas macleodii P 49	*Alteromonas macleodii 107 DSM 6062*	۹۹/۷۵
Psychrobacter celer P 16	*Psychrobacter celer SW-238*	۹۹/۴۷
Bacillus pumilus P 12	*Bacillus pumilus strain ATCC 7061*	۹۸/۸۸
Virgibacillus salarius P 46	*Virgibacillus salarius SA-Vb1*	۹۹/۶۵
Streptomyces kanasensis P 44	*Streptomyces coelicolor NBRC 12854*	۹۹/۲۵



شکل ٤. درخت فیلوژنتیک باکتریهای جداسازی شده از روده میگو بعد از تغذیه با پروبیوتیک. اعداد نشان داده شده در کنار گره ها بیانگر میزان Bootstrap است. نوار مقیاس بیانگر جایگزینی یک نوکلئوتید در ۵۰۰ نوکلئوتید می باشد. Pyrodictium abyssi DSM 6158 به عنوان Out group در نظر گرفته شد.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

بحث

درک اثر بخشی فراورده‌های پروبیوتیک بر فیزیولوژی میزبان مستلزم ارزیابی تاثیرات آن بر میکروبیوم روده می باشد (Ringø *et al*., 2022). فراورده های پروبیوتیک بهینه با بکارگیری مجموعه ای از راهبردها از قبیل تولید متابولیت های ثانویه، رقابت برای جذب مواد غذایی، اتصال به گیرنده های سلولی میکروبیوم روده میزبان را تعدیل می نمایند (Cheng *et al*., 2023; Hembrom *et al*., 2024). تغییرات الگوی تنوع زیستی در روده میزبان پس از تجویز پروبیوتیک به عنوان یکی از شاخص های ارزیابی اثر بخشی پروبیوتیک در مطاله حاضر مورد مطالعه قرار گرفت. بحث در ارتباط با ثبات میکروبیوم روده میگو از جنبه‌های پیچیده‌ای برخوردار است. سطح گسترده روده جانوران سدی است که در برابر التهاب و عفونت عوامل بیماریزا حفاظت ایجاد می‌کند. این حفاظت فیزیکی با عواملی مانند یکپارچگی ساختاری، پروتئین‌های ایمنی و یک میکروبیوم پایدار مرتبط است (Duan *et al*., 2017).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد فراوانی کل باکتری‌های قابل کشت در روده میگوهای دریافت کننده پروبیوتیک از طریق غذا بطور معناداری از فراوانی این باکتری‌ها در نمونه‌های دریافت کننده پروبیوتیک از طریق آب بیشتر بود. این فراوانی در نمونه‌های کنترل از نمونه‌های دریافت کننده پروبیوتیک کمتر ثبت شد. این افزایش فراوانی را می توان با دریافت روزانه فراورده پروبیوتیک مرتبط دانست. از آنجا که نمونه‌های موجود در تیمار کنترل بدون دریافت باکتری به سیستم پرورش نگهداری شدند کاهش بار میکروبی قابل انتظار بود.

ارزیابی الگوی تنوع زیستی باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌های میگو در تیمارهای مختلف بیانگر تغییر به سمت غالبیت گونه های Bacillus در تیمارهای دریافت‌کننده پروبیوتیک بود. بطوریکه غالبیت گونه‌های Bacillus منجر به کاهش ۲۰ درصدی گونه‌های متعلق به جنس Vibrio و حذف گونه‌های متعلق به جنس های Pseudomonas ، Aeromonas، Shewanella و Photobacterium در نمونه‌های دریافت کننده پروبیوتیک از طریق غذا گردید. با توجه به توانایی باکتری‌های فیرمیکوت در پیشگیری از تولید سیتوکین‌های التهابی و جلوگیری از اختلال عملکرد روده ناشی از فعالیت باکتریهای بیماریزا به عنوان شاخص مناسبی برای ارزیابی وضعیت روده میگو محسوب می شوند (Duan *et al*. 2019). در مطالعه دیگری نیز فراوانی برخی از باکتری‌های دریایی و بومی در میگوهای در معرض پروبیوتیک کاهش یافت. برای نمونه در یک مطالعه نسبت *Rhodopirellula baltica* که یک باکتری هتروتروف هوازی دریایی است کاهش یافت. این باکتری معمولاً در مزارع آبزی-پروری و محیط های دریایی شناسایی و در چرخه نیتروژن و تجزیه زیستی مواد آلی نقش داشت در مقابل، *Rhudobacter capsulatus*، که دارای طیف وسیعی از قابلیت‌های متابولیک و برخی فعالیت‌های ضد باکتریایی در برابر باکتری‌های گرم منفی افزایش یافت (Lage *et al*. 2012).

نتایج مطالعه دیگری نشان داد ترکیب Bacillus و پروبیوتیک Alibio ضمن تعدیل میکروبیوم تنوع جوامع میکروبی روده را کاهش داد. همچنین بر سلامت میزبان تأثیر گذاشت. بیشترین میزان بقا در برابر چالش Vibrio parahaemolyticus با میگوهای تیمار شده با مخلوط Bacillus ۳۳ درصد و پس از آن Alibio ۲۱ درصد رخ داد. گروه کنترل مقاومت کمی در برابر چالش داشتند (۹ درصد). این نتایج ارزیابی الگوی تنوع زیستی در مطالعه آنها نشان داد ترکیب میکروبیوتای روده میگوهای تیمار شده با مخلوط Bacillus کاملاً متفاوت از گروه شاهد بود است. افزودن مخلوط Bacillus به طور قابل توجهی باعث کاهش تنوع و غنای گونه ها و افزایش شباهت انواع گونه های میکروبی شد (Luis *et al*., 2013).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

نتایج مطالعه دیگری در همین زمینه نشان داد باکتری *Clostridium butyricum* تعادل میکرواکولوژیک روده آبزی را تنظیم کرد (Nakanishi *et al*., 2003). نتایج این مطالعه نشان داد رژیم غذایی حاوی *C. butyricum* ترکیب میکروبی روده میگو را تغییر داد و متابولیسم هوازی باکتری‌های قابل کشت، به ویژه متابولیسم منبع کربن، از جمله کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه و پلیمرها را بهبود بخشید. پس از ۵۶ روز مصرف غذای مکمل شده با *C. butyricum*، گونه‌های باکتریایی غالب روده میگو متعلق به شاخه های Proteobacteria و Bacteroidetes بودند (Huang *et al*., 2016). علاوه بر این فراوانی Firmicutes در سه گروه دریافت کننده *C. butyricum* غالب بود. نتایج مطالعه مذکور نشان داد رژیم غذایی حاوی *C. butyricum* باعث تحریک رشد باکتری‌های مفید در روده میگوی *P. vannamei* گردید.

نتایج مطالعه دیگری نشان داد رژیم غذایی حاوی *C. butyricum* خطر بیمارگرهای فرصت طلب بویژه تعداد Vibrio که به طور معمول در روده میگو غالب است را برای حمله به ایمنی میزبان کاهش داد (Rungrassamee *et al*., 2014). در مطالعه حاضر نیز میزان فراوانی Vibrio در نمونه دریافت کننده پروبیوتیک از طریق غذا کاهش قابل ملاحظه ای یافت (شکل ۲).

از دیگر دلایل احتمالی تاثیر فراورده پروبیوتیک بومی بر تنوع میکروبی روده میگو در مطالع حاضر تولید انواع مختلفی از آنزیم‌های گوارشی و تاثیر آن‌ها بر بهبود عملکرد گوارشی میگو باشد (Ziaei-Nejad *et al*., 2006; Zokaeifar *et al*., 2012; Miandare *et al*., 2016). همچنین بیوسنتز اسیدهای چرب توسط باکتریهای پروبیوتیک‌ها که موجب افزایش ظرفیت گوارشی روده میزبان می شود می تواند با با فراهم کردن منبع انرژی تنوع میکروبیوم روده را تغییر دهد (Laplante and Sabatini, 2009).

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که فراورده پروبیوتیک بومی مورد آزمون تاثیر معناداری بر فراوانی و تنوع میکروبیوم روده *P. vannamei* نشان داد. نتایج حاضر بیانگر تثبیت گونه‌های مفید با فراوانی بالا و کاهش یا حذف باکتری‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب بود. همچنین دریافت پروبیوتیک از طریق غذا کارایی بالاتری نسبت به تجویز پروبیوتیک از طریق آب نشان داد. این مطالعه موجب درک بهتر تاثیر فراورده های پروبیوتیک بر ترکیب و پویایی میکروبیوتای روده میگو گردید.

References:

Cheng, A.C., Ballantyne, R., Chiu, S.T. and Liu, C.H., 2023. Microencapsulation of Bacillus subtilis E20 Probiotic, a Promising Approach for the Enrichment of Intestinal Microbiome in White Shrimp, *Penaeus vannamei*. Fishes, *8*(5), p.264.DOI: 10.3390/fishes8050264.

Davis, C., 2014. Enumeration of probiotic strains: review of culture-dependent and alternative techniques to quantify viable bacteria. *Journal of microbiological methods*, 103, pp.9-17.DOI: 10.1016/j.mimet.2014.04.012.

Dawood, M.A., Eweedah, N.M., Moustafa, E.M. and Shahin, M.G., 2020. Symbiotic effects of Aspergillus oryzae and β-glucan on growth and oxidative and immune responses of *Nile Tilapia*, Oreochromis niloticus. *Probiotics and antimicrobial proteins*, *12*, pp.172-183.DOI: 10.1007/s12602-018-9513-9.

Duan, Y., Wang, Y., Liu, Q., Dong, H., Li, H., Xiong, D. and Zhang, J., 2019. Changes in the intestine microbial, digestion and immunity of Litopenaeus vannamei in response to dietary resistant starch. *Scientific reports*, *9*(1), p.6464. DOI: 10.1038/s41598-019-42939-8.

Duan, Y., Zhang, Y., Dong, H., Wang, Y., Zheng, X. and Zhang, J., 2017. Effect of dietary Clostridium butyricum on growth, intestine health status and resistance to ammonia stress in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, *65*, pp.25-33. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.03.048.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

Food and Agriculture Organization (FAO). 2019. Fisheries and Aquaculture Software. FishStatJ-Software for Fishery Statistical Time Series. In FAO Fisheries and Aquaculture Department (online). Rome. Available online: http://www.fao.org/Fishery/statistics/software/fishstatj/en (accessed on 20 February 2019).

Hembrom, P.S., Barik, S., Deepthi, M., Kannoth, S. and Grace, T., 2024. Influence of gut microbiome on health and development of penaeid shrimps. *Aquatic Sciences*, *86*(1), p.4.DOI:10.1007/s00027-023-01018-x.

Huang, Z., Li, X., Wang, L. and Shao, Z., 2016. Changes in the intestinal bacterial community during the growth of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, *47*(6), pp.1737-1746. DOI: 10.1111/are.12628.

Jiang, S., Li, X., Zhang, L., Sun, W., Dai, S., Xie, L., Liu, Y. and Lee, K.J., 2008. Culturable actinobacteria isolated from marine sponge lotrochota sp. *Marine Biology*, *153*, pp.945-952. DOI: 10.1007/s00227-007-0866-y.

Lage, O.M., Bondoso, J. and Viana, F., 2012. Isolation and characterization of Planctomycetes from the sediments of a fish farm wastewater treatment tank. *Archives of microbiology*, *194*, pp.879-885. DOI: 10.1007/s00203-012-0821-2.

Laplante, M. and Sabatini, D.M., 2009. An emerging role of mTOR in lipid biosynthesis. *Current biology*, *19*(22), pp.R1046-R1052.DOI: 10.1016/j.cub.2009.09.058.

Luis-Villasenor, I.E., Castellanos-Cervantes, T., Gomez-Gil, B., Carrillo-García, Á.E., Campa-Córdova, A.I. and Ascencio, F., 2013. Probiotics in the intestinal tract of juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei:* modulation of the bacterial community. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *29*, pp.257-265.DOI: 10.1007/s11274-012-1177-0.

Maeda, M., Shibata, A., Biswas, G., Korenaga, H., Kono, T., Itami, T. and Sakai, M., 2014. Isolation of lactic acid bacteria from kuruma shrimp (Marsupenaeus japonicus) intestine and assessment of immunomodulatory role of a selected strain as probiotic. *Marine biotechnology*, *16*, pp.181-192.DOI: 10.1007/s10126-013-9532-1.

Miandare, H.K., Yarahmadi, P. and Abbasian, M., 2016. Immune related transcriptional responses and performance of Litopenaeus vannamei post-larvae fed on dietary probiotic PrimaLac®. *Fish & Shellfish Immunology*, *55*, pp.671-678.DOI: 10.1016/j.fsi.2016.06.053.

Nakanishi, S., Kataoka, K., Kuwahara, T. and Ohnishi, Y., 2003. Effects of high amylose maize starch and Clostridium butyricum on metabolism in colonic microbiota and formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in the rat colon. *Microbiology and immunology*, *47*(12), pp.951-958.DOI: 10.1111/j.1348-0421. 2003.tb03469. x.

Paz, Z., Burdman, S., Gerson, U. and Sztejnberg, A., 2007. Antagonistic effects of the endophytic fungus Meira geulakonigii on the citrus rust mite Phyllocoptruta Olivera. *Journal of applied microbiology*, *103*(6), pp.2570-2579.DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03512. x.

Ringø, E., Harikrishnan, R., Soltani, M. and Ghosh, K., 2022. The effect of gut microbiota and probiotics on metabolism in fish and shrimp. *Animals*, *12*(21), p.3016. DOI: 10.3390/ani12213016.

Rungrassamee, W., Klanchui, A., Maibunkaew, S., Chaiyapechara, S., Jiravanichpaisal, P. and Karoonuthaisiri, N., 2014. Characterization of intestinal bacteria in wild and domesticated adult black tiger shrimp (Penaeus monodon). *PloS one*, *9*(3), p.e91853.DOI: 10.1371/journal.pone.0091853.

Won, S., Hamidoghli, A., Choi, W., Bae, J., Jang, W.J., Lee, S. and Bai, S.C., 2020. Evaluation of potential probiotics Bacillus subtilis WB60, Pediococcus pentosaceus, and Lactococcus lactis on growth performance, immune response, gut histology and immune-related genes in whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Microorganisms*, *8*(2), p.281.DOI: 10.3390/microorganisms8020281.

Woo, P.C., Ng, K.H., Lau, S.K., Yip, K.T., Fung, A.M., Leung, K.W., Tam, D.M., Que, T.L. and Yuen, K.Y., 2003. Usefulness of the MicroSeq 500 16S ribosomal DNA-based bacterial identification system for identification of clinically significant bacterial isolates with ambiguous biochemical profiles. *Journal of clinical microbiology*, *41*(5), pp.1996-2001. DOI: 10.1128/JCM.41.5.1996-2001.2003.

Zhang, M., Liang, H., Lei, Y., Zhang, Y., Tan, Z., Chen, W., Li, S., Peng, X. and Tran, N.T., 2023. Aspergillus niger confers health benefits and modulates the gut microbiota of juvenile Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) under farming conditions. *Frontiers in Marine Science*, *10*, p.1211993. DOI:10.3389/fmars.2023.1211993.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.R. and Shakouri, M., 2006. The effect of Bacillus spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, *252*(2-4), pp.516-524.DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.07.021.

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*(4), pp.683-689.DOI: 10.1016/j.fsi.2012.05.027.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]