



## تأثیر پروبیوتیک‌های باکتوسل و دی‌پرو بر عملکرد رشد، میزان بازماندگی و ترکیب بدن پست لارو میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*)

سید حامد امینیان<sup>۱</sup>، ایمان سوری نژاد<sup>۱\*</sup>، رضا اسعدی<sup>۲</sup>، نکاور محمدیان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

<sup>۲</sup>گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری

<sup>۳</sup>گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

### نوع مقاله:

### چکیده

### پژوهشی

### تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۶/۰۵/۰۸

اصلاح: ۹۶/۰۸/۱۳

پذیرش: ۹۶/۰۹/۲۱

### کلمات کلیدی:

پروبیوتیک

پروتئین بدن

ضریب رشد ویژه

مرفولوژی

میگو

تأثیر پروبیوتیک‌های باکتوسل و دی‌پرو بر عملکرد رشد، بازماندگی و ترکیب شیمیایی بدن پست لارو میگوی بزرگ آب شیرین در یک دوره تغذیه‌ای ۶۰ روزه بررسی شد. آزمایش با ذخیره‌سازی ۴۰ قطعه میگو درون مخازن ۱۵۰ لیتری در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۳ تکرار و در مجموع با ۶۰۰ قطعه پست لارو با وزن متوسط اولیه  $0.04 \pm 0.09$  گرم انجام شد. گروه‌های آزمایشی جیره بدون پروبیوتیک (شاهد)، تیمار یک و دو به ترتیب با ۰/۳ و ۰/۶ گرم پروبیوتیک باکتوسل و تیمار سه و چهار به ترتیب با ۰/۴ و ۰/۸ گرم پروبیوتیک دی‌پرو در هر کیلوگرم جیره غذایی بودند. در پایان دوره، شاخص‌های رشد، تغذیه و ترکیبات شیمیایی بدن آنالیز شدند. وزن پایانی، وزن به‌دست‌آمده، شاخص وضعیت، درصد بازماندگی، ضریب رشد ویژه و کارایی پروتئین در میگوهای تغذیه‌شده با پروبیوتیک افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت ( $P < 0.05$ ) و بیشترین میزان این شاخص‌ها و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار چهار مشاهده گردید. ترکیبات تقریبی بدن در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری داشت به‌طوری‌که بیشترین میزان پروتئین و چربی بدن در تیمار چهار مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). به نظر می‌رسد پروبیوتیک باکتوسل و دی‌پرو به ترتیب در سطوح ۰/۶ و ۰/۸ گرم در کیلوگرم جیره می‌توانند در بهبود عملکرد رشد و تغذیه و ترکیب بدن پست لارو میگوی بزرگ آب شیرین پرورشی مؤثر باشند.

### مقدمه

آبزی‌پروری یکی از بخش‌های مهم تولید غذا در کنار کشاورزی به شمار می‌رود. میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) یکی از گونه‌های آبزی پرورشی است که به دلیل سرعت رشد بالا، اندازه بزرگ، کیفیت مطلوب گوشت و مزه لذیذ در دنیا مورد توجه قرار گرفته است. اندازه میگوی بزرگ آب شیرین معمولاً در ماده‌ها به ۲۵۰ و در نرها به ۳۲۰ میلی‌متر می‌رسد. گونه *M. rosenbergii* بومی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری آب‌های جنوب شرقی آسیا بوده و در قسمت‌هایی از اقیانوسیه و جزایر اقیانوس آرام غربی حد فاصل اقیانوس هند و آرام پراکنش دارد (Muralisankar et al., 2015). میگوی بزرگ آب شیرین برای اولین بار در سال ۱۳۶۸ از کشور تایلند وارد ایران گردید و با وجود تلاش‌های انجام‌گرفته تکثیر آن میسر

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [sourinejad@hormozgan.ac.ir](mailto:sourinejad@hormozgan.ac.ir)

نگردید. لذا در سال ۱۳۷۲ به دعوت شرکت سهامی شیلات ایران، کارشناسان میگو از کشور تایلند به ایران آمدند و بررسی‌هایی را در مورد تکثیر و پرورش میگوی آب شیرین انجام دادند و در نهایت گزارشی مبنی بر مناسب بودن شرایط استان خوزستان جهت پرورش و تکثیر این گونه تدوین گردید. پرورش میگوی آب شیرین در مراحل لاروی بسیار حساس و مهم بوده و اغلب تلفات زیادی را به همراه دارد؛ بنابراین با توجه به توسعه طرح‌های پرورش میگوی آب شیرین در مناطق مستعد کشور، نیاز به لاروهای با کیفیت مناسب و قوی روز به روز افزایش می‌یابد. یکی از مواردی که می‌تواند به افزایش رشد و بازماندگی لاروهای میگو کمک نماید دقت در رساندن مواد غذایی با کیفیت بالا در تغذیه آن‌ها است. افزایش تولید آبزیان و به تبع آن افزایش حجم دست‌کاری‌ها و نهاده‌های مصرفی موجب بروز خطراتی برای سلامتی، پایین آمدن کیفیت بدن و شاخص‌های رشد موجود می‌گردد. در این راستا استفاده از مواد ضدعفونی‌کننده، مواد ضد میکروبی و آنتی‌بیوتیک‌ها، موفقیت‌های محدودی در درمان بیماری‌ها داشته و حتی در برخی مواقع، بی‌اثر و یا سبب افزایش توان بیماری‌زایی عوامل بیماری‌زا می‌شوند. از طرف دیگر، مصرف مقدار کم آنتی‌بیوتیک‌ها و یا استفاده مکرر از آنتی‌بیوتیک‌های متفاوت در درمان بیماری‌ها، باعث ایجاد مقاومت چندگانه در باکتری‌ها شده و باعث می‌شود که باکتری‌های گوناگون، در مقابل مصرف مجدد آنتی‌بیوتیک از خود مقاومت نشان دهند (Guo et al., 2009; Jayanthi et al., 2015).

اخیراً به‌کارگیری مواد محرک سیستم ایمنی در صنعت آبزی‌پروری، برای بهبود و تحریک فعالیت سیستم ایمنی غیراختصاصی و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا عمومیت یافته است. این مواد به‌صورت مکمل‌هایی به غذاهای ساخته‌شده افزوده می‌شوند و برای جلوگیری از گسترش بیماری‌ها و افزایش کارایی ضریب تبدیل غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. با توجه به محدودیت‌های استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌ها، می‌توان از این مکمل‌های غذایی تحت عنوان پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها و سین بیوتیک‌ها به‌عنوان یک جایگزین بیولوژیک در درمان و پیشگیری از بروز بیماری و افزایش مقاومت سیستم ایمنی بدن آبزیان استفاده نمود. استفاده از مکمل‌های غذایی مانند پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها و سین بیوتیک‌ها به‌منظور افزایش رشد و بهبود جمعیت باکتریایی دستگاه گوارش از ایده‌های مطرح می‌باشد (Hoseinifar et al., 2015). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی نظیر باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها می‌باشند که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده با جایگزین شدن در جایگاه اتصال باکتری‌های مضر و استفاده از مواد غذایی مورد نیاز آن‌ها، اثرات سودمندی روی میزبان می‌گذارند و باعث افزایش مقاومت میزبان، بهبود ضریب تبدیل غذایی، افزایش نرخ رشد ویژه و بازماندگی بهتر و افزایش وزن نهایی می‌شوند (Lim et al., 2011).

باکتری‌های گرم مثبت خانواده باسیلوس که از جمله متداول‌ترین پروبیوتیک‌های مورد استفاده در آبزی‌پروری می‌باشند قادر به تولید و ترشح محدوده وسیعی از آنزیم‌های خارج سلولی هستند مخصوصاً باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* که قادر به هضم میکروبی پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌باشند (Bagheri et al., 2008; Moriarty, 1998). به همین دلیل در تحقیق حاضر از پروبیوتیک دی پرو Di-Pro استفاده شد که حاوی باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* می‌باشد. باکتری‌های اسید لاکتیک نیز از رایج‌ترین پروبیوتیک‌های استفاده شده در تغذیه حیوانات هستند. اثرات سودمند این باکتری‌ها شامل افزایش رشد، افزایش کارایی غذا، جلوگیری از اختلال‌های روده‌ای و انجام پیش هضم فاکتورهای ضد تغذیه‌ای<sup>۱</sup> موجود در اجزای غذا می‌باشد. بنابراین پروبیوتیک مهم دیگر مورد استفاده در این تحقیق، باکتوسل (Bactocell) می‌باشد که از سویه باکتری *Pedococcus acidilactici* تشکیل شده است. این پروبیوتیک محصول شرکت Lallemand فرانسه و به‌عنوان یک زیست‌یار حیاتی است. یک گرم از این پروبیوتیک حاوی  $1 \times 10^9$  باکتری است. این فرآورده با پرشمار شدن در دستگاه گوارش میزبان و چسبیدن به روده، سیستم ایمنی و مقاومت آبزیان را در مقابل بیماری‌ها و استرس‌های محیطی افزایش می‌دهد و درعین حال سبب افزایش فاکتورهای رشد شده و با کاهش تلفات، تولید بیشتری را در زمان کوتاه‌تر به دست خواهد داد (Gatesoupe et al., 1997).

همان‌گونه که بیان شد تکثیر و پرورش میگوی بزرگ آب شیرین در ایران از سابقه چندانی برخوردار نیست و این امر به دلیل بومی نبودن این گونه و عدم وجود بیوتکنیک مناسب جهت تکثیر و پرورش آن است. لذا بررسی راه‌های بهبود شرایط تکثیر و

<sup>1</sup> Antinutrient

پرورش این گونه در مناطق مستعد کشور از جمله استان کرمانشاه و سایر استان‌های مستعد ضروری به نظر می‌رسد. هدف از تحقیق حاضر تعیین اثر پروبیوتیک‌های باکتوسل و دی‌پرو بر عملکرد رشد، بازماندگی و ترکیب بدن پست لاروهای میگوی بزرگ آب شیرین در شرایط پرورش استان کرمانشاه می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### آماده‌سازی شرایط آزمایش

این تحقیق در تابستان ۱۳۹۵ به مدت ۶۰ روز در ایستگاه مرکز تحقیقات شیلات شهرستان قصر شیرین در استان کرمانشاه انجام شد. میگوهای بزرگ آب شیرین با میانگین وزنی  $0.04 \pm 0.09$  گرم از این مرکز تهیه شده و در همان مرکز نیز پرورش داده شدند. برای طی دوره سازگاری، پست لاروها به مدت ۲ هفته درون یک تانک ۱۰۰۰ لیتری با استفاده از غذای تجاری غذایی شدند. برای آزمایش‌های اصلی، تعداد ۱۵ عدد تانک پلی‌اتیلنی فایبرگلاس ۱۵۰ لیتری در نظر گرفته شد. قبل از ذخیره‌سازی، تانک‌ها به وسیله مواد ضدعفونی‌کننده نظیر هیپوکلریت سدیم کاملاً ضدعفونی شده و سپس با آب شستشو داده شدند. مخازن با ۱۰۰ لیتر آب رودخانه پر شده و روزانه ۵۰ درصد آب از طریق سیفون کردن جهت تخلیه مدفوع میگو و مواد باقیمانده تعویض شد. میگوها به تعداد ۴۰ قطعه در هر مخزن ذخیره‌سازی شدند. هوادهی به‌طور مداوم انجام شد. برای تأمین اکسیژن موردنیاز در هر یک از مخازن یک عدد سنگ هوا که به دستگاه هواده متصل بودند نصب گردید. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی انجام شد. در داخل هر تانک تعداد ۶ عدد لوله PVC با قطر ۶ سانتی‌متر و طول ۱۰ سانتی‌متر به‌عنوان پناهگاه برای جلوگیری از هم‌جنس‌خواری و تغذیه بهتر، قرار داده شد زیرا این میگوها در محیط‌های تاریک بهتر تغذیه می‌کنند و نور شدید برای آن‌ها مضر است. دمای آب و اکسیژن محلول به‌صورت روزانه در ساعات ۱۰ الی ۱۱ صبح و pH هر سه روز یک‌بار اندازه‌گیری شد.

پروبیوتیک‌های مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از پروبیوتیک باکتوسل به‌عنوان نخستین پروبیوتیک مجاز در آبزیان که در سال ۲۰۰۹ در اروپا به ثبت رسیده است و از شرکت پاک گستر پرند (ایران) تهیه شد. این پروبیوتیک از سویه باکتری *Pedococcus acidlactici* تشکیل شده است و یک گرم از آن حاوی  $10^9 \times 10^9$  باکتری است. پروبیوتیک دیگر دی‌پرو Di-Pro بود که از شرکت تک ژن زیست تهیه گردید و حاوی اسپورهای مقاوم به حرارت *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* و عاری از میکروارگانسیم‌های دست ورزی شده ژنتیکی به میزان  $3/2 \times 10^{12}$  در واحد کیلوگرم است که پس از رسیدن به روده میزبان، جوانه‌زده و فعال می‌شوند.

### ساخت جیره غذایی برای میگوی بزرگ آب شیرین و غذادهی

اجزای تشکیل‌دهنده غذا از شرکت خوراک آبزیان نقشین (سرپل ذهاب) خریداری شد. سپس درصدهای مناسب از هرکدام از اجزا به کمک نرم‌افزار UFFDA محاسبه شده و نسبت به توزین آن‌ها با ترازوی دیجیتال اقدام گردید. پس از مخلوط کردن خوراک، دوزهای مختلف پروبیوتیک‌های باکتوسل و دی‌پرو به همراه مقداری آب اضافه گردید و پس از هم زدن که به شکل خمیری در آمد، درون چرخ‌گوشت دستی ریخته شده و به‌صورت پلت شکل داده شد. با توجه به رطوبت بالای پلت تولیدی، خوراک برای مدت نیم ساعت در آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس به مدت یک هفته تا ۱۰ روز در فضای آزاد با دمای محیط ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا خشک شود. پس از خشک شدن غذا، آن را با آسیاب خرد کرده و سپس مورد استفاده میگو قرار می‌گرفت. با توجه به اندازه ریز پست لاروها حتماً باید غذای داده‌شده متناسب با سایز دهان میگو باشد. غذاهای استارتر کرامپ و ذرات زیر ۰/۸ میلی‌متر با الک کردن جدا شدند.

گروه‌های آزمایشی شامل جیره بدون پروبیوتیک (شاهد)، تیمار یک و دو به ترتیب با ۰/۳ و ۰/۶ گرم پروبیوتیک باکتوسل و تیمار سه و چهار به ترتیب با ۰/۴ و ۰/۸ گرم پروبیوتیک دی‌پرو در هر کیلوگرم جیره غذایی بودند. پروبیوتیک‌ها پس از وزن کردن با ترازوی آزمایشگاهی، به اجزای تشکیل‌دهنده غذا که به‌خوبی باهم میکس شده بودند اضافه گردیدند و بعد از اضافه

کردن پروبیوتیک‌ها، دوباره به خوبی باهم مخلوط شدند. اجزای تشکیل‌دهنده غذا برای همه جیره‌ها ثابت بود و پروبیوتیک‌ها به جیره اضافه شدند. رطوبت نهایی غذا به حدود ده درصد رسید. درصد اجزای تشکیل‌دهنده جیره و ترکیب تقریبی آن در ماده خشک در طول دوره تحقیق در جدول ۱ ارائه شده است.

میگوها بعد از انتقال به سالن پرورش به منظور سازگاری به مدت یک هفته با جیره شاهد تغذیه شدند و بعد از مرحله سازگاری در ابتدای آزمایش زیست‌سنجی میگوها انجام گرفت. سپس تغذیه با جیره‌های حاوی پروبیوتیک باکتوسل و دی پرو آغاز گردید. در طول دوره ۶۰ روزه، غذادهی به صورت دستی و بر اساس مشاهدات رفتار تغذیه میگوها تا حد سیری در سه نوبت صبح، ظهر و عصر و در ساعات ۶، ۱۳ و ۲۰ انجام گرفت. در هر وعده غذادهی میزان غذای مصرفی در هر مخزن اندازه‌گیری و ثبت می‌گردید.

جدول ۱. درصد اجزای تشکیل‌دهنده جیره و ترکیب تقریبی آن در ماده خشک

اجزای خوراک	سویا	روغن	گلوتن	ژلاتین	نشاسته	آرد گندم	پودر ماهی	پودر گوشت	مکمل معدنی	مکمل ویتامینه	بی‌کلسیم فسفات
درصد	۱۵/۴۶	۶/۰۴	۰/۶	۰/۵	۱۰	۲۲	۲۰	۱۰	۰/۵	۰/۵	۵/۰
ترکیب تقریبی جیره (در ماده خشک)	چربی	فسفر	خاکستر	کلسیم	پروتئین	کربوهیدرات					
درصد	۱۰	۰/۹	۹	۱/۲	۳۵/۵	۳۳					

### بررسی شاخص‌های رشد میگوها و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای بررسی عملکرد رشد میگوها، شاخص‌های رشد شامل شاخص وضعیت، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، میزان بازده غذایی، میزان کارایی پروتئین و درصد بازماندگی با استفاده از فرمول‌های ذیل در انتهای دوره محاسبه شد (Seenivasan *et al.*, 2014).

$$(CF) = (W/TL^3) \times 100 = \text{شاخص وضعیت}$$

$$W = \text{وزن بر حسب گرم، } TL = \text{طول کل بر حسب سانتی‌متر}$$

$$(WG) = W_f - W_i = \text{افزایش وزن بدن بر حسب گرم}$$

$$W_f = \text{وزن نهایی بدن (گرم)، } W_i = \text{وزن اولیه بدن (گرم)}$$

$$(SGR) = (\ln W_f - \ln W_i) / t \times 100 = \text{ضریب رشد ویژه}$$

$$\ln W_f = \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی (گرم)، } t = \text{طول دوره پرورش (روز)}$$

$$(SR) = 100 \times (\text{تعداد پست لاروهای معرف شده/تعداد پست لاروهای زنده}) = \text{درصد بازماندگی}$$

$$(FCR) = F / (W_f - W_i) = \text{ضریب تبدیل غذایی}$$

$$F = \text{مقدار غذای مصرف شده (گرم)، } W_f = \text{وزن نهایی (گرم)، } W_i = \text{وزن اولیه (گرم)}$$

$$(FER) = (W_f - W_i) / F = \text{میزان بازده غذایی}$$

$$W_f = \text{وزن نهایی (گرم)، } W_i = \text{وزن اولیه (گرم)، } F = \text{مقدار غذای مصرف شده (گرم)}$$

$$(PER) = (W_f - W_i) / AP = \text{میزان کارایی پروتئین}$$

$$W_f = \text{وزن نهایی (گرم)، } W_i = \text{وزن ابتدایی (گرم)، } AP = \text{مقدار پروتئین مصرف شده}$$

در پایان دوره پرورش از هر تانک تعداد ۱۰ قطعه میگو به طور کاملاً تصادفی انتخاب و بعد از جدا کردن کاراپاس، در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد منجمد و سپس به آزمایشگاه منتقل شدند. برای آنالیز تقریبی ترکیب جیره غذایی و بدن میگو جهت کنترل مقادیر پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت از روش استاندارد AOAC (۱۹۹۰) استفاده گردید. پروتئین کل با استفاده از

دستگاه کج‌دال (Kjeltec Auto (Sweden), Analyser, 2300 Tecator)، چربی با استفاده از دستگاه سوکسله اتوماتیک ساخت کشور سوئد، رطوبت با استفاده از دستگاه آون مارک بنیدر آلمان در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و خاکستر با استفاده از روش کوره الکتریکی مارک هریوس آلمانی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴ ساعت اندازه‌گیری شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار Excel و SPSS نسخه ۲۲ استفاده گردید. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov سنجش شد. داده‌های به‌دست‌آمده از شاخص‌های رشد و تغذیه و همچنین مقادیر ترکیب شیمیایی نمونه‌ها با استفاده از روش تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) آزمون شدند. سپس مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای Duncan در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ مورد تحلیل آماری قرار گرفت.

### نتایج

در کل دوره آزمایش، میانگین دمای آب ۲۹-۲۸ درجه سانتی‌گراد، میزان اکسیژن ۸ - ۶/۵ و pH ۷-۵/۸ در نوسان بود. در طول دوره آزمایش تمام جیره‌های غذایی به‌خوبی توسط میگوها مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج سنجش شاخص‌های رشد و تغذیه میگوی بزرگ آب شیرین در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج به‌دست‌آمده بیانگر این است که افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، میزان کارایی پروتئین، شاخص وضعیت و درصد بازماندگی در جیره‌های آزمایشی از افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد برخوردار بود ( $p < 0.05$ ). همچنین ضریب تبدیل غذایی در جیره شاهد افزایش معنی‌داری نسبت به جیره‌های آزمایشی داشت ( $p < 0.05$ ).

میانگین مقادیر ترکیبات بدن میگوی آب شیرین تغذیه‌شده با تیمارهای مختلف در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج حاصل از آنالیز تقریبی ترکیبات بدن میگوی بزرگ آب شیرین اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف نشان داد ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان رطوبت در میگوی تغذیه‌شده با تیمار شاهد مشاهده شد که از ترکیبات پروبیوتیکی در جیره غذایی آن استفاده نشده بود. کمترین میزان رطوبت نیز در بدن میگوی تیمار دی پرو ۰/۸ مشاهده شد. با افزایش میزان استفاده از ترکیبات پروبیوتیکی، میزان پروتئین بدن افزایش یافت. بیشترین میزان پروتئین بدن در تیمار دی پرو ۰/۸ مشاهده شد و کمترین میزان پروتئین بدن نیز در تیمار شاهد مشاهده گردید. کمترین میزان چربی بدن در تیمار شاهد مشاهده گردید و با افزایش استفاده از ترکیبات پروبیوتیک در جیره غذایی میزان چربی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). میانگین مقادیر خاکستر بدن هرچند با استفاده از پروبیوتیک افزایش یافت اما این افزایش بین تیمارهای مختلف معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ).

جدول ۲. میانگین  $\pm$  انحراف معیار شاخص‌های رشد و تغذیه میگوی بزرگ آب شیرین در تیمارهای مختلف

شاخص	تیمار			
	شاهد	باکتوسل ۰/۳	باکتوسل ۰/۶	دی‌پرو ۰/۸
وزن اولیه (گرم)	۰/۰۸۸±۰/۰۰۳	۰/۰۸۹±۰/۰۰۴	۰/۰۸۷±۰/۰۰۳	۰/۰۹۰±۰/۰۰۴
وزن پایانی (گرم)	۱/۶۵±۰/۰۰۸ <sup>a</sup>	۲±۰/۰۰۴ <sup>b</sup>	۲/۲۷±۰/۰۱۳ <sup>c</sup>	۲/۵۱±۰/۰۱۳ <sup>d</sup>
وزن به‌دست‌آمده (گرم)	۱/۵۶±۰/۰۰۸ <sup>a</sup>	۱/۹۱±۰/۰۰۴ <sup>b</sup>	۲/۱۸±۰/۰۱۳ <sup>c</sup>	۲/۴۱±۰/۰۱۳ <sup>d</sup>
ضریب رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۷۴±۰/۰۰۸ <sup>a</sup>	۱/۰۷±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۱/۲۹±۰/۰۰۱ <sup>c</sup>	۱/۴۷±۰/۰۰۹ <sup>d</sup>
ضریب تبدیل غذایی	۳/۲۷±۰/۰۰۳ <sup>c</sup>	۳/۱۹±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>	۳/۱۳±۰/۰۰۳ <sup>ab</sup>	۳/۱۲±۰/۰۰۵ <sup>a</sup>
میزان کارایی پروتئین	۰/۸۶±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	۰/۸۸±۰/۰۰۱ <sup>b</sup>	۰/۸۹±۰/۰۰۲ <sup>bc</sup>	۰/۹۰±۰/۰۰۲ <sup>c</sup>
شاخص وضعیت	۰/۷۲±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	۰/۷۹±۰/۰۰۶ <sup>ab</sup>	۰/۸۳±۰/۰۰۹ <sup>bc</sup>	۰/۸۸±۰/۰۰۵ <sup>bc</sup>
بازماندگی (درصد)	۴۷/۵±۲/۵ <sup>a</sup>	۵۲/۵±۵ <sup>ab</sup>	۵۵/۸۳±۶/۲۹ <sup>abc</sup>	۶۰±۵ <sup>bc</sup>

حروف غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح اطمینان ۰/۰۵ می‌باشد.

جدول ۳. میانگین  $\pm$  انحراف معیار ترکیبات شیمیایی بدن میگوی بزرگ آب شیرین در تیمارهای مختلف

شاخص	تیمار	شاهد	باکتوسل ۰/۳	باکتوسل ۰/۶	دی پرو ۰/۴	دی پرو ۰/۸
رطوبت (درصد)	۷۷/۹۵ $\pm$ ۰/۶۴ <sup>c</sup>	۷۵/۹ $\pm$ ۰/۶ <sup>b</sup>	۷۳/۶۸ $\pm$ ۰/۴۹ <sup>a</sup>	۷۳/۵۷ $\pm$ ۰/۳۲ <sup>a</sup>	۷۲/۷۱ $\pm$ ۰/۷۱ <sup>a</sup>	
پروتئین (درصد)	۱۵/۵۲ $\pm$ ۰/۶۳ <sup>a</sup>	۱۷/۵۶ $\pm$ ۰/۸۳ <sup>b</sup>	۱۹/۴۱ $\pm$ ۰/۶۸ <sup>c</sup>	۱۹/۶۶ $\pm$ ۰/۴۷ <sup>c</sup>	۲۰/۵۳ $\pm$ ۰/۳۹ <sup>c</sup>	
چربی (درصد)	۰/۸۹ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۰۲ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۱/۳ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۱/۱۲ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۱/۲۸ $\pm$ ۰/۰۱۹ <sup>b</sup>	
خاکستر (درصد)	۲/۴۸ $\pm$ ۰/۳۶	۲/۹۵ $\pm$ ۰/۱۵	۳/۰۱ $\pm$ ۰/۰۲۱	۲/۸۲ $\pm$ ۰/۰۴۹	۳/۱۳ $\pm$ ۰/۰۳۴	

حروف غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح اطمینان ۹۵٪ می‌باشد.

## بحث

گسترش مصرف انواع مواد افزودنی در غذا و افزایش چشمگیر تولیدات جهانی فرآورده‌های دام، طیور و آبزیان، حجم و میزان دارو و ترکیبات شیمیایی مورد استفاده که به‌عنوان یک آلاینده، محیط‌زیست را تهدید و سلامت مصرف‌کنندگان این فرآورده‌ها را به مخاطره می‌اندازد افزایش داده است (Merrifield *et al.*, 2010). در این راستا محققین در دهه‌های اخیر توجه خود را به استفاده از افزودنی‌های بیولوژیک در جیره جهت افزایش تولید معطوف داشته‌اند. از جمله این افزودنی‌ها می‌توان به پروبیوتیک‌ها اشاره نمود. محققان مختلف گزارش کرده‌اند که پروبیوتیک‌ها در بهبود سیستم ایمنی میزبان و افزایش بقای لاروهای آبزیان با ایجاد جمعیت غالب در روده لاروهای آبزی و جلوگیری از فعالیت باکتری‌های مضر و پاتوژن نقش بسزایی دارند.

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، کمترین میزان بازماندگی میگوی بزرگ آب شیرین در تیمار شاهد مشاهده شد که از هیچ مکمل پروبیوتیکی در تغذیه آن‌ها استفاده نشده بود. نتایج به‌خوبی نشان می‌دهد که استفاده از این ترکیبات احتمالاً باعث افزایش مقاومت موجود نسبت به بیماری و شرایط نامساعد محیطی می‌شود. هم‌راستا با این تحقیق، Seenivasan و همکاران (۲۰۱۱)، Dash و همکاران (۲۰۱۴) و Ghosh و همکاران (۲۰۱۶) نیز افزایش بازماندگی را با استفاده از ترکیبات پروبیوتیکی در جیره میگوی بزرگ آب شیرین گزارش نمودند.

باکتری‌های زیست‌یاری می‌توانند از طریق بهینه‌سازی متابولیسم و سوخت و ساز مواد غذایی و ایجاد شرایط اکولوژیکی مطلوب در سیستم‌های پرورشی، عملکرد رشد را افزایش دهند. تحقیقات مختلف نشان داده است که به‌کارگیری اصولی باکتری‌های زیست‌بار، معیارهای رشد نظیر طول و وزن نهایی و ضریب رشد ویژه در آبزیان پرورشی را بهبود می‌بخشد (Liu *et al.*, 2009). نتایجی که از این تحقیق به دست آمد نشان داد که پروبیوتیک‌های مورد استفاده در جیره غذایی میگوی آب شیرین توانستند شاخص‌های رشد از جمله افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه را بهبود دهند. همچنین این پروبیوتیک توانست شاخص‌های کارایی تغذیه مثل ضریب تبدیل غذایی و میزان کارایی پروتئین را بهبود بخشد. هم‌راستا با این تحقیق، Seenivasan و همکاران (۲۰۱۱) با مطالعه اثر پروبیوتیک (Binifit<sup>TM</sup>)، Avakh Keysami و همکاران (۲۰۱۲) با مطالعه نقش پروبیوتیک *Bacillus subtilis*، Ranjit Kumar و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی پروبیوتیک *Bacillus licheniformis*، Jayanthi و همکاران (۲۰۱۵) با مطالعه پروبیوتیک ViBact و Ghosh و همکاران (۲۰۱۶) با مطالعه چند نوع پروبیوتیک در میگوی بزرگ آب شیرین گزارش نمودند که استفاده از پروبیوتیک در جیره غذایی باعث افزایش شاخص‌های رشد میگوی آب شیرین می‌شود.

یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان مقدار ضریب تبدیل غذایی است چراکه علاوه بر کاهش هزینه‌های غذا و غذادهی، به سبب مقدار کمتر غذادهی، از آلودگی ثانویه آب محیط پرورش و به دنبال آن کاهش پارامترهای کیفی آب جلوگیری خواهد کرد. آنالیز شاخص‌های تغذیه‌ای میگوهای آب شیرین پرورش داده‌شده در این تحقیق نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف دیده می‌شود. بیشترین میزان کارایی پروتئین و کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی هم‌راستا با شاخص‌های رشد در تیمارهای غنی‌شده با پروبیوتیک مشاهده گردید و نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند. مطالعات بسیاری تأثیر سویه‌های مختلف پروبیوتیک‌ها را در افزایش رشد و بهبود کارایی تغذیه آبزیان گزارش کرده‌اند. در تحقیقی که توسط Bairagi و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد، باسیلوس سابتلیس و باسیلوس سیرکولانس جداشده از ماهی کپور و ماهی تیلپیا در

جیره غذایی ماهی رهو به کار برده شد. نتایج نشان داد که نسبت کارایی پروتئین، قابلیت هضم ظاهری و بهره‌برداری پروتئین افزایش یافته و عملکرد ماهی در ارتباط با معیارهای رشد ارتقا یافت. در تحقیق دیگری Khademi و همکاران (۲۰۱۴)، تأثیر پروبیوتیک پروتکسین در جیره غذایی را بر عملکرد رشد و درصد بازماندگی ماهی دریایی صبیتی *Sparidentex hasta* بررسی نمودند. بالاترین میزان کارایی پروتئین و همچنین کمترین ضریب تبدیل غذایی در جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک پروتکسین بر کیلوگرم جیره غذایی به دست آمد و با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد.

از سوی دیگر یکی از جنبه‌های مهم آبی‌پروری پایدار، به‌کارگیری منابع غذایی کم‌ارزش در جهت افزایش کارایی تغذیه و همچنین کاهش هزینه‌ها می‌باشد. باکتری‌های زیست‌یاز قادرند که مواد غذایی سخت هضم را به‌خوبی در دستگاه گوارش آبزیان هضم نموده و با افزایش قابلیت جذب آن‌ها، موجب رشد بهتر آبی‌پرورش گردند. Ziaei-Nejad و همکاران (۲۰۰۶) ثابت کردند که باسیلوس‌های به‌کاررفته در آب استخرهای پرورش میگوی سفید هندی باعث افزایش معنی‌دار پارامترهای رشد و تولید نهایی استخرهای پرورش میگو شدند. تأثیرگذاری باکتری‌های زیست‌یاز در خصوص ارتقای معیارهای رشد و افزایش بقا در ماهیان پرورشی در تحقیقات زیادی به اثبات رسیده است. میکروارگانسیم‌های مفید از یک‌سو با بهینه‌سازی فاکتورهای کیفی آب موجب ایجاد شرایط مناسب زیستی برای آبزیان پرورشی شده و از سوی دیگر با ترشح برخی مواد خارج سلولی از جمله آنزیم‌های گوارشی، موجبات هضم و جذب بهتر مواد غذایی خورده شده را برای آبی‌پرورش فراهم می‌کنند (Irianto and Austin, 2002). همچنین با تحریک سیستم ایمنی ماهیان میزان بازماندگی را تا حد زیادی افزایش می‌دهند (Irianto and Austin, 2003)؛ بنابراین تمامی این عملکرد به‌صورت کارایی بالای تغذیه، رشد بهتر، بقا و سازگاری بیشتر با محیط آبی و کاهش هزینه‌های تولید نمایان شده که در آبی‌پروری پایدار می‌تواند به‌عنوان یک امتیاز بارز قلمداد گردد (Kim and Austin, 2006). سهولت در ایزولاسیون و کشت باکتری‌های زیست‌یاز از محیط‌های آبی و دستگاه گوارش ماهیان و کاربرد ساده و کم‌هزینه آن‌ها یکی دیگر از مزیت‌های این محصولات بیولوژیک بوده که هم‌سو با ساختارهای محیط‌زیست و اصول بوم‌شناختی نیز می‌باشد. لذا باکتری‌های زیست‌یاز در اکثر موارد با داشتن قابلیت‌های خوب تأثیرگذاری در رشد و بقای آبزیان، با گسترش زیادی در صنعت آبی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرند (Gullian *et al.*, 2004). عملکرد آنزیمی نسبتاً بالا در لاروهای آبزیان تحت تأثیر پروبیوتیک‌ها در گزارش‌های علمی مختلف آورده شده است. پروبیوتیک‌ها هنگام ورود به روده میزبان، به سطح روده متصل شده و از کربوهیدرات‌های موجود در محیط روده برای رشد و ترشح آنزیم‌های خارج سلولی نظیر برخی از آنزیم‌های گوارشی از جمله آمیلاز، پروتئاز و لیپاز استفاده می‌کنند. این آنزیم‌ها موجب افزایش قابلیت هضم پذیری پروتئین، چربی و مواد قندی شده و در نتیجه کارایی تغذیه و رشد بهتری را در لاروهای آبزیان موجب می‌گردند و از اختلالات روده‌ای جلوگیری می‌کنند (Bairagi *et al.*, 2002; Lara-Flores, 2011).

نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز ترکیبات تقریبی بدن میگوی آب شیرین پرورش داده‌شده در این تحقیق، اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف نشان داد. با استفاده از مکمل‌های پروبیوتیک در جیره، میزان پروتئین و چربی بدن به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. کمترین میزان پروتئین و چربی در تیمار شاهد دیده شد که از هیچ مکمل پروبیوتیکی در فرمول جیره غذایی آن استفاده نشده بود. میزان خاکستر بدن میگوی آب شیرین در این تحقیق اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف نشان نداد اما با یک روند ثابت با استفاده از پروبیوتیک در جیره غذایی افزایش غیر معنی‌داری یافت. در مقابله با افزایش چربی و پروتئین بدن میگوی آب شیرین، میزان رطوبت بدن به‌طور معنی‌داری با استفاده از پروبیوتیک باکتوسل و دی‌پرو در جیره غذایی میگوی آب شیرین کاهش یافت.

هم‌راستا با این آزمایش، محققان بسیاری کاهش میزان رطوبت را در بدن ماهیان و میگوهای تغذیه‌شده با مکمل‌های پروبیوتیکی گزارش کرده‌اند. Dash و همکاران (۲۰۱۴) کاهش میزان رطوبت را در بدن میگوی بزرگ آب شیرین تغذیه‌شده با سطوح مختلف پروبیوتیک گزارش دادند. نتایج تحقیق حاضر همچنین با مطالعه Seenivasan و همکاران (۲۰۱۴)، Venkat و همکاران (۲۰۰۴) و Shinde و همکاران (۲۰۰۸) روی میگوی بزرگ آب شیرین هم‌خوانی دارد. نتایج مشابهی روی پروتئین و چربی بدن میگوی آب شیرین هم‌راستا با این آزمایش گزارش شده است. Dash و همکاران (۲۰۱۴) و Seenivasan و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک باعث بهبود پروتئین و چربی بدن میگوی آب شیرین شده است. در تناقض با

نتایج گزارش شده، Haroun و همکاران (۲۰۰۶)، با مطالعه روی ماهی تیلایپای نیل تأثیر معنی‌داری را در ترکیبات بدن ماهیان تغذیه شده با مکمل‌های پروبیوتیکی گزارش نکردند. احتمالاً از جمله دلایل مهم و اثرگذار در رابطه با تأثیر استفاده از پروبیوتیک‌ها در ترکیب بدن موجود را می‌توان نوع پروبیوتیک مورد استفاده، نحوه کاربرد، شرایط پرورش و گونه پرورشی عنوان نمود. پروبیوتیک‌ها احتمالاً از طریق افزایش قابلیت هضم پروتئین و چربی موجب افزایش ذخیره پروتئین و چربی لاشه گشته و کارایی آن‌ها را بالا می‌برند (Bairag *et al.*, 2004).

در نتیجه‌گیری کلی، مشاهدات تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که سویه‌های مختلف باکتری‌های زیست‌یار توانایی افزایش تولید در محصولات آبزی کشورمان را دارا بوده و به عنوان یک ایده و راهبرد اساسی در جهت آبی‌پروری پایدار می‌توانند مفید واقع گردند. نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان می‌دهد استفاده از پروبیوتیک باکتوسل و دی‌پرو می‌تواند رشد و کارایی تغذیه را در میگوی بزرگ آب شیرین افزایش دهد. همچنین میزان پروتئین و چربی بدن میگوی بزرگ آب شیرین تغذیه شده با این پروبیوتیک‌ها افزایش یافت که نشان می‌دهد کارایی استفاده از جیره و منابع غذایی در حضور پروبیوتیک باکتوسل و دی‌پرو بهبود یافته است؛ بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از پروبیوتیک‌های باکتوسل و دی‌پرو در جیره غذایی میگوی بزرگ آب شیرین به ترتیب در سطوح ۰/۱۶ و ۰/۱۸ گرم در کیلوگرم جیره می‌تواند باعث افزایش تولید و بهبود ترکیب تقریبی بدن شود.

### تشکر و قدردانی

مؤلفین بر خود لازم می‌دانند از مدیر محترم اداره شیلات شهرستان قصر شیرین جناب آقای مهندس کردرستمی و کارکنان محترم اداره کل شیلات استان کرمانشاه به‌ویژه مهندس پوریا و مهندس رنجبر که در فراهم کردن امکانات این تحقیق نهایت همکاری را مبذول داشتند کمال تشکر و قدردانی را به عمل آورند. همچنین از آقای مهندس نادری مدیر محترم شرکت پاک گستر پرند که در فراهم نمودن پروبیوتیک، محققان را یاری نمودند سپاسگزاری می‌گردد.

### منابع

- AOAC. 1990. Official method of analysis AOAC, Washington DC, USA. 1263 p.
- Avakh Keysami, M., Mohammadpour, M., Saad, C.R. 2012. Probiotic activity of *Bacillus subtilis* in juvenile freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) at different methods of administration to the feed. *Aquaculture International*. 20: 499-511.
- Bagheri, T., Hedayati, S.A., Yavari, V., Alizade, M., Farzanfar, A. 2008. Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 8(1): 43-48.
- Bairagi, A., Ghosh, K.S., Sen, S.K., Ray, A.K. 2004. Evaluation of the nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Aquaculture Research*. 35: 436-446.
- Bairagi, A., Sarkar Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K. 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquaculture International*. 10: 109-121.
- Dash, G., Raman, R.P., Pani Prasad, K., Makesh, M., Pradeep, M.A., Sen, S. 2014. Evaluation of *Lactobacillus plantarum* as feed supplement on host associated microflora, growth, feed efficiency, carcass biochemical composition and immune response of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). *Aquaculture*. 432: 225-236.
- Gatesoupe, F.J., Zambonino Infante, J.L., Cahu, C., Quazuguel, P. 1997. Early weaning of seabass larvae, *Dicentrarchus labrax*: the effect on microbiota, with particular attention to iron supply and exoenzymes. *Aquaculture*. 158 (1-2): 117-127.
- Ghosh, A., Bir, J., Azad, A.K., Hasanuzzaman, A.F., Islam, S. 2016. Impact of commercial probiotics application on growth and production of giant fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii* De Man, 1879). *Aquaculture Reports*. 4: 112-117.

- Gullian, M., Thompson, F., Rodriguez, J. 2004. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*. 233: 1-14.
- Guo, J.J., Liu, K.F., Cheng, S.H., Chang, C.I., Lay, J.J., Hsu, Y.O., Yang, J.Y., Chen, T.I. 2009. Selection of probiotic bacteria for use in shrimp larviculture. *Aquaculture Research*. 40: 609-618.
- Haroun, E.R.E., Goda, A.M.A.S., Chowdhury, M.A.K. 2006. Effect of dietary probiotic Biogen supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture Research*. 37: 1473-1480.
- Hoseinifar, S.B.H., Mirvaghefi, A., Amoozegar, M.A., Merrifield, D.L., Ringø, E. 2015. In vitro selection of a synbiotic and in vivo evaluation on intestinal microbiota, performance and physiological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Aquaculture Nutrition*. DOI: 10.1111/anu.12373.
- Irianto, A., Austin, B. 2002. Probiotic in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*. 25: 1-10.
- Irianto, A., Austin, B. 2003. A short communication: use of dead probiotic cells to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*. 26: 59-62.
- Jayanthi, L., Saravana Bhavan, P., Srinivasan, V., Muralisankar, T., Manickam, N. 2015. Dietary supplementation of probiotics product (ViBact\*) on the survival, growth, biochemical constituents and gut microflora of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* Post-Larvae. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*. 2 (5): 67-88.
- Khademi, F., Sajjadi, M.M., Sourinejad, I., Mirzadeh, G., Taheri Kondor, O., Daryaei, A. 2014. The effect of dietary probiotic protexin on growth performance and survival rate in Silver Seabream *Sparidentex hasta*. *Exploitation and Culture of Aquatic Organisms*. 3(2): 65-78.
- Kim, D.H., Austin, B. 2006. Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. *Fish & Shell fish Immunology*. 21(5): 513-524.
- Lara-Flores, M. 2011. The use of probiotic in aquaculture: an overview. *International Research Journal of Microbiology*. 2: 471-478.
- Lim, H.J., Kapareiko, D., Schott, E.J., Hanif, A., Wikfors, G.H. 2011. Isolation and evaluation of new probiotic bacteria for use in shellfish hatcheries: Isolation and Screening for Bioactivity. *Journal of Shellfish Research*. 30(3): 609-615.
- Liu, C.H., Chiu, C.S., Ho, P.L., Wang, S.W. 2009. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. *Journal of Applied Microbiology*. 107: 1031-1041.
- Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T.M., Bogwald, J., Castex, M., Ringo, E. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*. 302: 1-18.
- Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture*. 164(1): 351-358.
- Muralisankar, T., Saravana Bhavan, P., Radhakrishnan, S., Seenivasan, C., Srinivasan, V., Santhanam, P. 2015. Effects of dietary zinc on the growth, digestive enzyme activities, muscle biochemical compositions, and antioxidant status of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*. 448: 98-104.
- Ranjit Kumar, N., Prakash Raman, R., Jadhao, S.B., Kumar Brahmchari, R., Kumar, K., Dash, G. 2013. Effect of dietary supplementation of *Bacillus licheniformis* on gut microbiota, growth and immune response in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). *Aquaculture International*. 21: 387-403.
- Seenivasan, C., Radhakrishnan, S., Shanthi, R., Muralisankar, T., Bhavan, P.S. 2014. Effect of *Lactobacillus sporogenes* on survival, growth, biochemical constituents and energy utilization of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post larvae. *The Journal of Basic & Applied Zoology*. 67(2): 19-24.
- Seenivasan, C., Saravana Bhavan, P., Radhakrishnan, S. 2011. Effect of probiotics (Binifit™) on survival, growth, biochemical constituents and energy budget of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post larvae. *Elixir Aquaculture*. 41: 5919-5927.
- Shinde, A.N., Mulye, V.B., Chogale, N.D., Bhatkar, V.R., Bondre, R.D., Mohite, A.S. 2008. Effect of different probiotics *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) post larvae. *Aquaculture*. 9: 7-12.

- Venkat, H.K., Sahu, N.P., Jain, K.K. 2004. Effect of feeding *Lactobacillus* based probiotics on the gut microflora, growth and survival of postlarvae of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Aquaculture Research*. 35: 501-507.
- Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.R., 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): 516-524.