



تأثیرات پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتروم (*Lactobacillus plantarum*) بر ترکیب شیمیایی بدن، شاخص‌های رشد، تغذیه و زنده‌مانی در شاه‌میگوی چنگال باریک آب شیرین (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823)

شیوا ندائی^۱، احمد نوری^{۱*}، علیرضا ولی پور^۲، علی‌اصغر خانی پور^۲، سید حسین حسینی فر^۳

^۱گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی و جوی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

^۲پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، بندر انزلی، ایران

^۳گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیرات کاربرد پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* بر ترکیبات شیمیایی بدن، شاخص‌های رشد، تغذیه و زنده‌مانی در شاه‌میگوی چنگال باریک آب شیرین می‌باشد. به این منظور، تعداد ۹۶ قطعه شاه‌میگو با میانگین وزنی $0.27 \pm 27/88$ گرم به ۱۲ تانک فایبرگلاس با حجم آب ۱۰۰ لیتر (۸ نمونه به ازای هر تانک) منتقل شدند. شاه‌میگوها به مدت ۹۷ روز با جیره غذایی حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک *L. plantarum* شامل ۰ (شاهد)، 10^7 (تیمار ۱)، 10^8 (تیمار ۲) و 10^9 (تیمار ۳) CFU به ازای هر گرم وزن جیره تغذیه شدند. غذادهی به صورت روزانه در دو وعده در ساعات ۹ صبح و ۴ بعدازظهر به میزان ۱/۵ درصد وزن بدن صورت گرفت. در پایان دوره پرورش، نمونه‌های موجود در تیمار ۳ نسبت به تیمار شاهد افزایش قابل ملاحظه‌ای در سطوح پروتئین و چربی بدن نشان دادند ($P < 0.05$). همچنین ارزش تولید پروتئین (PPV) و چربی (LPV) در تیمار ۳ نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ($P < 0.05$). در این مطالعه شاخص‌های رشد و زنده‌مانی در تیمارهای مصرف‌کننده پروبیوتیک نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشته است ($P > 0.05$). نتایج به دست آمده نشان‌دهنده تأثیرات مثبت پروبیوتیک *L. plantarum* بر برخی از ترکیبات شیمیایی بدن و شاخص‌های تغذیه‌ای و رشد در گونه *A. leptodactylus* بود.

کلمات کلیدی:

پروبیوتیک

شاخص رشد

شاه‌میگو

زنده‌مانی

مقدمه

گونه *Astacus leptodactylus* که به همراه دو زیرگونه آن *A.l. eichwaldi* و *A.l. leptodactylus* در آب‌های داخلی ایران حضور دارند، به دلیل داشتن استعداد بالقوه آبی‌پروری، ارزش غذایی بالا، اهمیت اقتصادی و تقاضای بالای بازار، جزء یکی از گونه‌های بارز شاه‌میگو در اروپا به شمار می‌آید (Karimpour et al., 2011). امروزه آلمان، سوئد، انگلستان و فرانسه از مهم‌ترین واردکنندگان این گونه از ایران می‌باشند (Harlioglu et al., 2012). در سال ۲۰۱۵ میلادی کل محصولات

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Nooryahmad@gmail.com

به‌دست‌آمده از این گونه (آبزی‌پروری و صید) ۷۵۲۴ تن بود که بخش اعظم این تولیدات را کشورهای آسیایی به خود اختصاص داده‌اند (FAO, 2016).

سازمان شیلات ایران، گونه‌هایی از آبزیان را که از پتانسیل آبزی‌پروری بالقوه‌ای برخوردار می‌باشند به ۶ گروه اصلی تقسیم کرده است. در این میان گونه *A. leptodactylus*، به‌عنوان تنها گونه بومی از شاه‌میگوهای آب شیرین موجود در ایران، جایگاه مهمی را در این تقسیم‌بندی به خود اختصاص داده است. اگرچه تاکنون تمامی تولیدات این گونه در ایران وابسته به صید از طبیعت بوده است (Harlioğlu and Farhadi, 2017). امروزه جمعیت شاه‌میگوهای موجود در تالاب انزلی به‌عنوان زیستگاه اصلی این گونه کاهش چشمگیری داشته است. از طرف دیگر علی‌رغم موفقیت‌های به‌دست‌آمده در معرفی شاه‌میگوها به بدنه‌های آبی مختلف در داخل کشور، فاکتورهای متعددی وجود دارند که بر بازده انتقال شاه‌میگوها به مکان جدید تأثیرات منفی می‌گذارند (Karimpour et al., 2011). بنابراین نظر به اهمیت اقتصادی این گونه، در سال‌های اخیر تلاش‌های بیشتری به‌منظور تکثیر و پرورش این گونه تحت شرایط کنترل شده صورت گرفته است (Karimpour et al., 2011; Mazlum et al., 2011). اگرچه صنعت آبزی‌پروری سخت‌پوستان به دنبال توسعه پرورش متراکم با مشکلات زیادی به‌دلیل افت کیفیت پارامترهای آب، ظهور بیماری و در نهایت خسران‌های بزرگ اقتصادی همراه بوده است (Jussila and Evans, 1996).

از آنجایی که در پرورش ماهی و سخت‌پوستان، بحث غذا حدود ۵۰-۶۰ درصد از هزینه‌های پرورش را به خود اختصاص می‌دهد، توجه به کیفیت جیره غذایی از ضرورت‌های مهم آبزی‌پروری محسوب می‌گردد (Ghiasvand et al., 2012). به‌طوری‌که، تغذیه مناسب نقش مهمی را در موفقیت پرورش شاه‌میگو ایفا کرده و فقدان دانش کافی در این زمینه، توسعه اقتصادی آن را محدود می‌سازد. در این میان استفاده از مکمل‌های غذایی افزایش‌دهنده رشد، به‌منظور بالا بردن سطح تولیدات در شرایط اسارت از اهمیت بالایی برخوردار است (Safari et al., 2015). در دهه اخیر مطالعات رو به رشدی در زمینه استفاده از مکمل‌های غذایی دوستدار محیط‌زیست مانند پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و سین‌بیوتیک در گونه *A. leptodactylus* صورت گرفته است (Didinen et al., 2010; Sajedi-Raad et al., 2010; Safari et al., 2014; Safari et al., 2017; Mazlum et al., 2011; et al., 2016). پروبیوتیک‌ها، به میکروارگانیزم‌های زنده‌ای اطلاق می‌شود که از طریق تولید ترکیبات بازدارنده رشد، تولید آنزیم‌های گوارشی، رقابت برای انرژی و جایگاه اتصال، ارتقاء پاسخ‌های ایمنی و بهبود کیفیت آب، موجب ایجاد توازن در فلور میکروبی دستگاه گوارش شده و به دنبال آن موجب افزایش سلامت میزبان می‌گردد (Verschuere et al., 2000). در این میان باکتری *Lactobacillus plantarum* که یکی از مهم‌ترین گونه‌های پروبیوتیک محسوب می‌شود، قادر به تولید ترکیبات ضد میکروبی مانند پلانناریسین می‌باشد که این ترکیبات می‌توانند دامنه وسیعی از پاتوژن‌ها را نابود نمایند (Cebeci and Gürakan, 2003). مصرف پروبیوتیک *L. plantarum* در گونه‌های بسیاری از ماهی‌ها و سخت‌پوستان موجب بهبود عملکرد پارامترهای رشد، تغذیه (Duc et al., 2017; Zheng et al., 2017; Giri et al., 2013; Dawood et al., 2015; Dash et al., 2014) و همچنین افزایش زنده‌مانی (Talpur et al., 2013; al., 2016) شده است. در دانش کنونی ما، علی‌رغم مزایای ذکر شده در زمینه تأثیرات مثبت پروبیوتیک *L. plantarum* در سخت‌پوستان و ماهی‌ها، کمبود اطلاعات در زمینه تأثیرات این پروبیوتیک بر گونه *A. leptodactylus* به شدت احساس می‌شود. لذا مطالعه حاضر به بررسی تأثیرات پروبیوتیک *L. plantarum* در سطوح مختلف بر ترکیبات شیمیایی بدن، شاخص‌های رشد، تغذیه و میزان زنده‌مانی در شاه‌میگوی چنگال باریک آب شیرین می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

تهیه جیره غذایی

به‌منظور تهیه جیره غذایی از نرم افزار جیره نویسی Lindo استفاده شد (جدول ۱). همچنین ترکیبات شیمیایی جیره غذایی و اقلام به کار رفته در آن بر اساس استانداردهای AOAC تعیین گردید (AOAC, 1992). به‌منظور ساخت جیره، اقلام خوراکی با توجه به ترکیب جیره پایه فراهم شد. در ابتدا مواد خشک با هم مخلوط و در نهایت روغن و آب به مخلوط حاصل اضافه گردید. عملیات اختلاط تا حصول مخلوط یکنواخت و همگن ادامه یافت. مخلوط غذایی به‌دست‌آمده از چرخ گوشت با قطر چشمه ۲ میلی‌متر عبور داده شد تا به شکل رشته‌های ماکارونی درآید. رشته‌های

به دست آمده پس از پخش شدن بر روی سینی‌های استیل به مدت ۱۲-۱۴ ساعت در درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد در داخل دستگاه خشک‌کن قرار گرفت. پس از خشک شدن، رشته‌ها خرد شده و بعد از بسته‌بندی در کیسه‌های ناپلونی تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Miandare et al., 2016).

پروبیوتیک *L. plantarum* به کار رفته در مطالعه حاضر از شرکت زیست‌پار وارنا (سوپر زیست، ایران) تهیه گردید. دوزهای پروبیوتیک به کار رفته در این مطالعه به صورت مقادیر ۰، ۱۰^۷، ۱۰^۸ و ۱۰^۹ CFU به ازای هر گرم جیره و بر اساس مطالعه Dash و همکاران (2014) در نظر گرفته شد. به این صورت مقادیر مختلف به ترتیب تحت عنوان تیمار شاهد، تیمار ۱، تیمار ۲ و تیمار ۳ در این آزمایش در نظر گرفته شدند. روش Amba و همکاران (2013) به عنوان الگو جهت تهیه تیمارهای آزمایشی با سطوح بیان شده در نظر گرفته شد. به طور خلاصه هریک از غلظت‌های پروبیوتیک ذکر شده در ۲۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک استریل به ازای هر کیلوگرم جیره حل شد و به جیره پایه که آغشته به روغن ماهی به میزان ۲۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم جیره شده بود، اسپری گردید. جیره‌های ساخته شده در داخل فویل‌های آلومینیومی و ظروف دربسته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا از رشد باکتری‌ها جلوگیری شود. به منظور حفظ میزان زنده‌مانی باکتری‌ها، غنی‌سازی جیره‌های پایه با پروبیوتیک هر ۴ روز یک‌بار تکرار شد (Kongnum and Hongpattarakere, 2012).

جدول ۱. نوع و مقدار مصرف اقلام غذایی در جیره پایه (شاهد)

مقدار در جیره (درصد)	اقلام خوراکی
۳۷/۶	پودر ماهی
۱۵	آرد گندم
۱۶/۱	آرد سویا
۵	آرد ذرت
۵	نشاسته
۲	پودر شاه‌میگو
۲	ژلاتین
۷/۸	روغن ماهی
۰/۵	کلسترول
۳	سلولز
۰/۵	کولین کلراید
۱	متیونین
۱	لازین
۰/۵	ویتامین C
۱	مخلوط ویتامین ^۱
۲	مخلوط معدنی ^۲
آنالیز تقریبی	
۹۲/۹۶	ماده خشک
۴۴	پروتئین خام
۱۶	چربی خام
۳/۶	خاکستر
۱/۶۸	فیبر
۷/۵۳	رطوبت
۳۶/۶۸	عصاره عاری از ازت ^۳
۴۷۱	انرژی ناخالص ^۴

^۱ ترکیب مخلوط ویتامینی بر اساس مطالعه Miandare و همکاران (2016)

^۲ ترکیب مخلوط معدنی بر اساس مطالعه Miandare و همکاران (2016)

^۳ Nitrogen-free extracts (NFE)

^۴ Gross energy (kcal 100 g⁻¹)

تهیه نمونه شاهمیگو

نمونه‌های شاهمیگوی چنگال باریک آب شیرین، پس از صید از دریاچه پشت سد ارس (استان آذربایجان غربی، ایران) به ایستگاه تغذیه و غذای زنده آبزیان (غازیان، بندرانزلی، ایران) انتقال یافتند. این آزمایش در سه تیمار و یک کنترل و با ۳ تکرار طرح‌ریزی شد. هر گروه در یک تانک فایبرگلاس با ظرفیت کل ۱۲۰ لیتر که به میزان ۱۰۰ لیتر آبگیری شده بود، قرار گرفت. در هر تانک، ۸ عدد شاهمیگو قرار گرفت که میانگین وزن اولیه کل گروه‌ها $0/27 \pm 27/88$ گرم (خطای استاندارد \pm میانگین) اندازه‌گیری شد. پس از طی دوره سازگاری با شرایط آزمایشی به مدت ۱۴ روز، هر گروه با جیره غذایی اختصاصی خود، دو بار در روز (۹ صبح و ۴ بعدازظهر) به میزان ۱/۵ درصد وزن بدن و به مدت ۹۷ روز تغذیه شدند. در طول دوره پرورش، میزان غذایی هر ۱۴ روز یک‌بار بعد از محاسبه بیوماس جدید اصلاح شد. هر روز صبح پیش از شروع غذایی، غذاهای خورده نشده و ضایعات تجمع یافته در کف تانک سیفون و مقدار غذای خورده شده محاسبه شد. همچنین هر یک روز در میان حدود ۹۰-۱۰۰ درصد آب تانک‌ها تعویض گردید. عمل هوادهی آب موجود در هر یک از مخازن در طول دوره پرورش به‌صورت دائم توسط پمپ هوای مرکزی صورت گرفت. پارامترهای آب شامل دما (۲۳-۲۵ درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول (۸/۷۰-۹/۵۵ میلی‌گرم در لیتر) و pH (۶/۷۰-۷/۲۰) به‌صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت شد. هر روز تعداد دفعات پوست‌اندازی یادداشت شد. همچنین به‌منظور کاهش هم‌نوع خواری در زمان پوست‌اندازی، تعداد ۸ عدد لوله پی‌وی‌سی به ابعاد ۲۰ سانتی‌متر و قطر ۷۵ میلی‌متر در کف هر یک از تانک‌ها تعبیه شد.

تجزیه تقریبی لاشه

در انتهای دوره پرورش، ۲۴ ساعت پس از آخرین غذایی، تعداد ۳ نمونه به‌صورت تصادفی از هر یک از تیمارها انتخاب گردید و بعد از بسته‌بندی در کیسه‌های نایلونی، تا مرحله انجام آنالیز در دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پروتئین خام از طریق روش کجلدال^۱ و با استفاده از سیستم کجلدال اتوماتیک (2300 Kejeltec Analyzer Unit – Foss Tecator 1996)، چربی خام به روش سوکسله و با استفاده از دستگاه (1043 Soxtec)، خاکستر به وسیله کوره الکتریکی (Heraeus آلمان) و در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت از طریق خشک کردن در آون (WT-Binder آلمان) در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد محاسبه گردید (AOAC, 1992).

محاسبه فاکتورهای رشد، تغذیه و زنده‌مانی

جهت تعیین اثرات افزودن پروبیوتیک مورد استفاده بر شاخص‌های رشد، تغذیه و زنده‌مانی شاهمیگوی چنگال باریک آب شیرین و مقایسه آن‌ها، داده‌های به‌دست‌آمده از زیست‌سنجی و همچنین نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز لاشه بر اساس فرمول‌های موجود اندازه‌گیری شده و برخی از فاکتورهای رشد و تغذیه به شرح زیر تعیین گردید.

شاخص‌های رشد

در هر مرحله از نمونه‌برداری، طول و وزن شاهمیگوها به‌منظور محاسبه فاکتورهای زیر اندازه‌گیری شدند (Glencross *et al.*, 2007):

$$WG (\%) = (W_f - W_i) \times 100 / W_i \quad \text{میزان افزایش وزن بدن}$$

که در این فرمول، WG میزان افزایش وزن بدن (درصد)، W_i وزن اولیه شاهمیگو (گرم) و W_f وزن نهایی شاهمیگو (گرم) می‌باشد.

$$SGR (\% / \text{day}) = \left[\frac{\ln W_t - \ln W_i}{T} \right] \times 100 \quad \text{ضریب رشد ویژه}^2$$

¹ Kjeldahl

² Specific Growth Rate

که در این فرمول، W_i وزن اولیه شاهمیگو (گرم)، W_t وزن شاهمیگو در زمان مورد نظر (گرم) و T زمان (روز) می‌باشد.

$$SR (\%) = N_t \times 100 / N_i \quad \text{میزان زنده‌مانی}$$

که در این فرمول، SR میزان بازماندگی (درصد)، N_i تعداد اولیه شاهمیگو و N_t تعداد شاهمیگو در زمان مورد نظر می‌باشد.

$$TL (\%) = (L_f - L_i) \times 100 / L_i \quad \text{میزان افزایش طول}$$

که در این فرمول، TL میزان افزایش طول (درصد)، L_i طول اولیه شاهمیگو (میلی‌متر) و L_f طول شاهمیگو (میلی‌متر) در زمان مورد نظر می‌باشد.

$$CF = 100 \times [W/L^3] \quad \text{شاخص وضعیت}^3$$

که در این فرمول، CF شاخص وضعیت، W برابر با وزن شاهمیگو (گرم) و L طول شاهمیگو (میلی‌متر) می‌باشد.

شاخص تغذیه (Glencross *et al.*, 2007)

$$FCR = (C \times T) / WG \quad \text{ضریب تبدیل غذایی}^4$$

که در این فرمول، FCR ضریب تبدیل غذایی، C مقدار غذای خورده شده روزانه (گرم)، T مدت پرورش (روز) و WG میزان افزایش وزن (گرم) می‌باشد.

$$PER = WG / P_i \quad \text{ضریب کارایی پروتئین}^5$$

که در این فرمول، PER ضریب کارایی پروتئین، WG میزان افزایش وزن (گرم) و P_i میزان پروتئین خام مصرف شده می‌باشد.

$$PPV(\%) = 100 \times (P_r / P_i) \quad \text{ارزش تولیدی پروتئین}^6$$

که در این فرمول، PPV ارزش تولیدی پروتئین، P_r میزان پروتئین باقیمانده در بدن و P_i میزان پروتئین خام مصرف شده می‌باشد.

$$LER = WG / L_i \quad \text{ضریب کارایی چربی}^7$$

که در این فرمول، LER ضریب کارایی چربی، WG میزان افزایش وزن (گرم) و L_i میزان چربی خام مصرف شده می‌باشد.

$$LPV (\%) = 100 \times (L_r / L_i) \quad \text{ارزش تولیدی چربی}^8$$

که در این فرمول، LPV ارزش تولیدی چربی، L_r میزان چربی باقیمانده در بدن و L_i میزان چربی خام مصرف شده می‌باشد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

³ Condition factor

⁴ Food Conversion Rate

⁵ Protein Efficiency Ratio

⁶ Protein Productive Value

⁷ Lipid Efficiency Ratio

⁸ Lipid Productive Value

ابتدا نرمال بودن داده با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک بررسی شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه به همراه آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ($P < 0/05$) انجام شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (ورژن ۲۴)، و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2016 در محیط ویندوز انجام شد (Zar, 2010).

نتایج

اثرات پروبیوتیک *L. plantarum* بر ترکیبات شیمیایی بدن

میزان ترکیبات شیمیایی بدن شاه‌میگوی چنگال باریک آب شیرین، پس از ۹۷ روز تغذیه با جیره غذایی حاوی مقادیر مختلف پروبیوتیک در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که مصرف *L. plantarum* منجر به افزایش سطح پروتئین لاشه گردید که این مقدار در تیمار ۳ در بالاترین حد خود قرار دارد ($P < 0/05$). همچنین میزان چربی خام در شاه‌میگوهای تغذیه‌شده در تیمار ۳ نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). با این وجود، تغذیه با جیره غذایی حاوی مقادیر مختلف پروبیوتیک باعث هیچ‌گونه افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان رطوبت و خاکستر لاشه شاه‌میگوها در مقایسه با تیمار شاهد نشد ($P > 0/05$).

جدول ۲. ترکیبات بدن شاه‌میگوی چنگال باریک آب شیرین پس از ۹۷ روز تغذیه با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. plantarum*

ترکیبات شیمیایی بدن	جیره حاوی پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (CFU به ازای گرم جیره)		
	تیمار ۱ (10^7)	تیمار ۲ (10^8)	تیمار ۳ (10^9)
پروتئین	۴۱/۸۷ ± ۰/۱۲ ^b	۴۱/۸۵ ± ۰/۲۳ ^b	۴۳/۵۵ ± ۰/۷۰ ^c
چربی	۲/۰۷ ± ۰/۰۷ ^a	۲/۳۶ ± ۰/۴۱ ^a	۳/۹۰ ± ۰/۶۳ ^b
رطوبت	۶۸/۱۰ ± ۰/۵۵ ^a	۶۷/۰۸ ± ۰/۳۵ ^a	۶۸/۰۶ ± ۱/۸۱ ^a
خاکستر	۳۱/۹۰ ± ۰/۵۵ ^a	۳۲/۹۲ ± ۰/۳۵ ^a	۳۱/۹۴ ± ۱/۸۱ ^a

مقادیر به صورت میانگین (± خطای استاندارد) بیان شده است. اعداد موجود در هر ردیف با حروف انگلیسی متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی مختلف می‌باشند ($P < 0/05$).

اثرات پروبیوتیک *L. plantarum* بر شاخص‌های تغذیه‌ای

نتایج بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای شاه‌میگوی چنگال باریک آب شیرین پس از ۹۷ روز تغذیه با جیره‌های غذایی حاوی مقادیر مختلف پروبیوتیک در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف پروبیوتیک *L. plantarum* هیچ‌گونه تأثیر معنی‌داری بر افزایش ضریب تبدیل غذایی، ضریب کارایی پروتئین و ضریب کارایی چربی نداشته است ($P > 0/05$). هرچند در تیمار ۳ افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان ارزش تولیدی پروتئین و ارزش تولید چربی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$).

جدول ۳. شاخص‌های تغذیه‌ای شاه‌میگوی چنگال باریک آب شیرین پس از ۹۷ روز تغذیه با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. plantarum*

شاخص‌های تغذیه	جیره حاوی پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (CFU به ازای گرم جیره)		
	تیمار ۱ (10^7)	تیمار ۲ (10^8)	تیمار ۳ (10^9)
ضریب تبدیل غذایی	۳/۱۵ ± ۰/۲۹ ^a	۳/۳۱ ± ۰/۴۵ ^a	۴/۱۲ ± ۰/۳۱ ^a
ضریب کارایی پروتئین	۰/۷۳ ± ۰/۰۷ ^a	۰/۷۱ ± ۰/۱۰ ^a	۰/۵۶ ± ۰/۰۴ ^a
ارزش تولیدی پروتئین	۲/۲۴ ± ۰/۰۴ ^{ab}	۲/۲۴ ± ۰/۱۳ ^{ab}	۲/۹۱ ± ۰/۴۳ ^b
ضریب کارایی چربی	۲/۰۲ ± ۰/۲۰ ^a	۱/۹۶ ± ۰/۲۷ ^a	۱/۵۴ ± ۰/۱۲ ^a
ارزش تولیدی چربی	۰/۲۳ ± ۰/۰۳ ^a	۰/۳۵ ± ۰/۰۸ ^a	۰/۷۱ ± ۰/۱۴ ^b

مقادیر به صورت میانگین (± خطای استاندارد) بیان شده است. اعداد موجود در هر ردیف با حروف انگلیسی متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی مختلف می‌باشند ($P < 0/05$).

اثرات پروبیوتیک *L. plantarum* بر شاخص‌های رشد و زنده‌مانی

اثرات مقادیر مختلف پروبیوتیک مصرف شده پس از ۹۷ روز تغذیه بر شاخص‌های رشد شاه‌میگوی چنگال باریک آب شیرین در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج این مطالعه نشان داد افزودن پروبیوتیک *L. plantarum* به جیره غذایی شاه‌میگو از نظر آماری افزایش قابل‌ملاحظه‌ای بر شاخص‌های رشد و زنده‌مانی نداشته است ($P > 0.05$).

جدول ۴. شاخص‌های رشد شاه‌میگوی چنگال باریک آب شیرین پس از ۹۷ روز تغذیه با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. plantarum*.

شاخص‌های رشد	جیره حاوی پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (CFU به ازای گرم جیره)			
	شاهد	تیمار ۱ (۱۰ ^۷)	تیمار ۲ (۱۰ ^۸)	تیمار ۳ (۱۰ ^۹)
وزن نهایی	۴۰/۱۹ ± ۱/۹۴ ^a	۴۱/۶۸ ± ۱/۶۳ ^a	۴۱/۴۸ ± ۲/۵۹ ^a	۳۶/۷۲ ± ۱/۶۹ ^a
میزان افزایش وزن بدن (درصد)	۴۴/۱۷ ± ۶/۹۶ ^a	۴۹/۵۲ ± ۵/۸۶ ^a	۴۸/۷۸ ± ۹/۳۱ ^a	۳۱/۷۲ ± ۶/۰۴ ^a
ضریب رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۳۷ ± ۰/۰۵ ^a	۰/۴۱ ± ۰/۰۴ ^a	۰/۴۱ ± ۰/۰۶ ^a	۰/۲۸ ± ۰/۰۵ ^a
میزان افزایش طول	۹/۹۳ ± ۰/۶۰ ^a	۱۳/۶۹ ± ۱/۴۱ ^a	۱۱/۵۲ ± ۲/۱۱ ^a	۸/۶۰ ± ۱/۰۳ ^a
شاخص وضعیت	۳/۳۸ ± ۰/۱۴ ^a	۳/۱۸ ± ۰/۲۲ ^a	۳/۳۶ ± ۰/۲۵ ^a	۳/۰۴ ± ۰/۳۰ ^a
میزان بازماندگی (درصد)	۷۷/۷۸ ± ۰/۰۰ ^a	۷۹/۶۳ ± ۱/۸۵ ^a	۷۵/۹۳ ± ۱/۸۵ ^a	۷۹/۶۳ ± ۱/۸۵ ^a

مقادیر به‌صورت میانگین (± خطای استاندارد) بیان شده است. اعداد موجود در هر ردیف با حروف انگلیسی متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی مختلف می‌باشند ($P < 0.05$).

بحث

تغییر در نسبت بار میکروبی سیستم گوارش موجود آبی از طریق کاربرد پروبیوتیک‌ها به‌عنوان روشی کارآمد در آبی‌پروری به‌منظور کاهش باکتری‌های مضر، بهبود عملکرد آنزیم‌های گوارش، شاخص‌های رشد و تغذیه و همچنین افزایش کارایی سیستم ایمنی در برابر استرس‌های محیطی و پاتوژن‌های فرصت‌طلب در گونه‌های مختلف آبزیان در نظر گرفته می‌شود (Zokaeifar et al., 2012). اخیراً گزارش‌های مروری فراوانی به بیان تأثیرات مثبت پروبیوتیک‌ها در گونه‌های مختلف ماهی‌ها و سخت‌پوستان پرداخته است (Castex et al., 2014; De et al., 2014; Hoseinifar et al., 2017). مطالعه حاضر به بررسی تأثیرات استفاده از پروبیوتیک *L. plantarum* بر ترکیبات شیمیایی بدن، شاخص‌های رشد، تغذیه و زنده‌مانی در گونه *A. leptodactylus* پرداخته است.

ترکیبات شیمیایی بدن آبزیان به شدت تحت تأثیر نوع پروبیوتیک و پری بیوتیک استفاده شده در غذای مصرفی می‌باشد (Meshram et al., 2014). نتایج بررسی آنالیز لاشه شاه‌میگو در مطالعه حاضر نشان داد علی‌رغم اینکه مصرف پروبیوتیک *L. plantarum* هیچ‌گونه افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان رطوبت و خاکستر بدن میزبان نداشته است، به‌صورت کارآمدی منجر به افزایش سطح پروتئین و چربی بدن گردید که این افزایش در تیمار ۳ که با بالاترین دوز پروبیوتیک تغذیه شد، به‌صورت قابل‌توجهی مشهود بوده است. بالاتر بودن پروتئین بدن می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که مصرف *L. plantarum* سبب گردیده تا غذای هضم شده به‌صورت کارآمدی به پروتئین‌های ساختاری و در نهایت عضله تبدیل گردد که این مسئله یکی از جوانب مثبت در پرورش آبزیان محسوب می‌گردد (Mehrabi et al., 2012). گزارش شده است که مصرف پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی می‌توانند موجب بهبود عملکرد آنزیم‌های گوارش شده و زمینه را برای افزایش قابلیت هضم، جذب و متابولیسم مواد مغذی فراهم کنند (Dash et al., 2014). بنابراین، افزایش میزان پروتئین و چربی در بدن شاه‌میگو در مطالعه حاضر می‌تواند به علت بهبود عملکرد آنزیم‌های پروتئاز و لیپاز و همچنین افزایش باکتری‌های مفید موجود در دستگاه گوارش باشد. همچنین گزارش شده است که مصرف پری‌بیوتیک یا پروبیوتیک می‌تواند از طریق افزایش کارایی مصرف اسیدهای چرب، موجب افزایش سطح چربی بدن گردد (Mansour et al., 2012). در مطالعه مشابهی که توسط Dash و همکاران (2014) بر روی *Macrobrachium rosenbergii* انجام شد، مصرف پروبیوتیک *L. plantarum* موجب افزایش سطح پروتئین بدن گردید. هرچند که تغییر معنی‌داری در میزان چربی، رطوبت و خاکستر بدن به دنبال مصرف *L. plantarum* مشاهده نشد. همچنین مصرف پروبیوتیک *L. acidophilus* و *L. sporogenes* در گونه *M. rosenbergii* (Venkat et al., 2004) و مصرف

جیره غذایی حاوی باکتری اسیدلاکتیک در گونه *Penaeus indicus* (Fernandez et al., 2011) به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش سطح پروتئین بدن گردید. مصرف پروبیوتیک تجاری PrimaLac در گونه *Litopenaeus vannameii* علی‌رغم تأثیرات مثبتی که بر میزان پروتئین، چربی و رطوبت بدن داشت، اما تأثیر معنی‌داری بر خاکستر بدن نشان نداد (Miandare et al., 2016). همچنین در مطالعه‌ای دیگر، مصرف پروبیوتیک *Bacillus sp.* در گونه *L. vannamei* اگرچه تأثیر مثبتی بر میزان پروتئین، خاکستر و رطوبت بدن نداشته، اما به‌صورت معنی‌داری منجر به افزایش سطح چربی شد (Lin et al., 2008; Yu et al., 2009). علی‌رغم نتایج مثبت گزارش شده در مورد مصرف پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید در گونه *A. leptodactylus* (Mazlum et al., 2011) و *L. vannamei* (Aktaş et al., 2014)، کاربرد این ترکیب نتوانست منجر به افزایش رطوبت، خاکستر، چربی و پروتئین بدن گردد. همچنین، مصرف خوراکی پری‌بیوتیک بتاگلوکان در گونه *M. rosenbergii* (Meshram et al., 2014) و پروبیوتیک *Bacillus subtilis* در گونه *Eriocheir sinensis* (Jianlin et al., 2011) تأثیر معنی‌داری بر ترکیبات شیمیایی بدن نداشت. به دست آوردن نتایج متناقض می‌تواند نشان‌دهنده این حقیقت باشد که تأثیرات پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها در گونه‌های مختلف آبزیان ممکن است تحت تأثیر عوامل مختلفی نظیر نوع مکمل مصرفی، سطوح مختلف مصرف آن‌ها و همچنین طول دوره پرورش باشد (Zhang et al., 2015).

بالا بردن نرخ رشد، زنده‌مانی و همچنین بهبود راندمان مصرف مواد مغذی در آبزیان در نتیجه استفاده از مکمل‌های غذایی از اهمیت بالایی برخوردار است. بهبود راندمان مصرف مواد مغذی در گونه‌های آبزی موجب کاهش تأثیرات مخرب آبی‌پروری بر روی محیط‌زیست و همچنین استفاده صحیح و کارآمدتر از مواد غذایی مصرفی، می‌گردد (Safari et al., 2014). تاکنون مطالعات زیادی به تأثیرات مثبت پروبیوتیک *L. plantarum* بر روی شاخص‌های رشد، تغذیه و زنده‌مانی در گونه‌های متعددی از ماهی‌ها و سخت‌پوستان اشاره داشته‌اند (Beck et al., 2015; Dash et al., 2014; Dawood et al., 2015; Huynh et al., 2017; Kongnum and Hongpattarakere, 2012; Zheng et al., 2018). اگرچه مکانیزم تأثیرگذاری پروبیوتیک‌ها بر روی افزایش میزان رشد در میزبان به‌طور کامل شناخته نشده است، اما این افزایش ممکن است در نتیجه افزایش تشکیل کلنی باکتری‌های اسیدلاکتیک و حذف باکتری‌های مضر و فرصت‌طلب در نتیجه استفاده از پروبیوتیک‌ها باشد (Newaj-Fyzul et al., 2014). علاوه بر این پروبیوتیک‌های زنده پس از اتصال موفقیت‌آمیز و تشکیل کلنی در دستگاه گوارش میزبان، قادر به سنتز آنزیم‌های خارج سلولی مانند پروتئاز، لیپاز، آمیلاز و همچنین فاکتورهای ارتقاء دهنده رشد مانند اسیدهای چرب، آمینواسید، کوفاکتور و ویتامین‌ها می‌باشند. این فاکتورها پس از تولید منجر به تحریک فعالیت بیشتر آنزیم‌های گوارشی میزبان شده و متعاقباً منجر به افزایش اشتها، قابلیت هضم و جذب مواد مغذی و در نهایت رشد بهتر موجود می‌گردد (Balcázar et al., 2006; Dash et al., 2014; De et al., 2014; Martínez Cruz et al., 2012). نشان داد که مصرف پروبیوتیک *L. plantarum* به‌طور موفقیت‌آمیزی موجب بهبود ضرایب تغذیه نظیر ارزش تولید پروتئین و چربی در *A. leptodactylus* گردید. اگرچه مطالعات صورت گرفته در زمینه تأثیر پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها بر روی ارزش تولید پروتئین و چربی محدود می‌باشد، اما مطالعه صورت گرفته بر روی گونه *A. leptodactylus* نشان داد که مصرف پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید، مانان الیگوساکارید و همچنین ترکیب این دو پری‌بیوتیک موجب افزایش شاخص‌های رشد، ضرایب تغذیه (ضریب تبدیل غذایی، ضریب کارایی پروتئین و چربی، ارزش تولید پروتئین و چربی) و همچنین زنده‌مانی در مقایسه با تیمار شاهد شده است (Safari et al., 2014). همچنین مصرف پروبیوتیک *Enterococcus faecalis* و *Pediococcus acidilactici* در گونه *A. leptodactylus* در افزایش رشد، زنده‌مانی، ضریب تبدیل غذایی، ضریب کارایی پروتئین و ارزش تولید پروتئین تأثیرات مثبتی داشته است (Safari and Paolucci, 2017). در مطالعه حاضر، علی‌رغم نتایج مثبت به‌دست‌آمده در زمینه تأثیر استفاده از *L. plantarum* بر روی برخی از ترکیبات شیمیایی بدن و نیز برخی از شاخص‌های تغذیه، مصرف پروبیوتیک مذکور نتوانست منجر به افزایش عملکرد رشد، زنده‌مانی، ضریب تبدیل غذایی، ضریب کارایی پروتئین و چربی گردد. در مطالعات مشابهی گزارش شده است که مصرف پروبیوتیک *L. plantarum* به‌صورت زنده در *L. vannamei* (Huynh et al., 2010; Vieira et al., 2018; et al., 2018) و به‌صورت غیرزنده در *M. rosenbergii* (Dash et al., 2015)، در بهبود شاخص‌های رشد، تغذیه و زنده‌مانی تأثیرگذار نبوده است. همچنین در مطالعه دیگری بر روی گونه *M. rosenbergii* مصرف پروبیوتیک

Mujeeb) در بهبود پارامترهای رشد، زنده‌مانی و ضریب تبدیل غذایی تأثیری نداشت (Mujeeb, 2010). در مقابل در مطالعات دیگری به تأثیر مثبت مصرف گونه‌های مختلف پروبیوتیک *Lactobacillus* sp. در *M. rosenbergii* بر بهبود شاخص‌های رشد و ضریب کارایی پروتئین اشاره شده است (Venkat et al., 2004). علاوه بر این، استفاده از پروبیوتیک *Pseudomonas synxantha* و *P. aeruginosa* در گونه *Penaeus latissulcatus* موجب کاهش معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی، افزایش ضریب رشد ویژه و زنده‌مانی شد (Van Hai and Fotedar, 2009). همچنین در مطالعه‌ای دیگر، مصرف پروبیوتیک *B. subtilis* در گونه *M. rosenbergii* (Keysami and Mohammadpour, 2013) و گونه *L. vannamei* (Zokaeifar et al., 2012) موجب بهبود شاخص‌های رشد، زنده‌مانی و ضریب تبدیل غذایی گردید. به دست آوردن نتایج متفاوت در زمینه تأثیر پروبیوتیک‌ها ممکن است به علت تفاوت در نوع گونه میزبان، مراحل تکامل، دوز مصرف، قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک، طول دوره پرورش و شرایط محیط پرورش باشد (Nayak, 2010). در مطالعه کنونی، در طول مدت پرورش شاهمیگو، در نتیجه پوست‌اندازی‌های مکرر و رفتار شدید هم نوع خواری در این گونه، تعدادی نمونه در تمام تیمارها به این دلیل از دست رفتند، هرچند این تلفات ناشی از وجود بیماری و یا نامناسب بودن شرایط نمونه‌ها نبود. نتایج مشابهی در گونه *A. leptodactylus* تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید (Mazlum et al., 2011) و همچنین گونه *Cherax tenuimanus* تغذیه‌شده با پروبیوتیک (Ambas et al., 2015) گزارش شده است. گونه *A. leptodactylus* یک گونه خشونت‌طلب و هم نوع خوار محسوب می‌گردد. بنابراین به دلیل سرعت رشد بالا که در نتیجه پوست‌اندازی‌های مکرر نیز صورت می‌گیرد، موجب آسیب‌پذیری بیشتر آن‌ها طی هم‌نوع خواری به‌خصوص در تراکم بالا می‌گردد (Holdich, 2002; Jussila and Evans, 1996; Mazlum et al., 2017; Mazlum et al., 2011).

شاهمیگوی چنگال باریک آب شیرین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گونه‌های پیشنهادی برای پرورش به‌منظور افزایش تنوع آبی‌پروری می‌تواند مدنظر باشد. با توجه به اینکه در بازار مصرف، تقاضا برای این گونه رو به افزایش است، می‌توان از این گونه در جهت پاسخ به تقاضا، در سیستم پرورشی استفاده نمود. لذا با توجه به تأثیرات مثبت به‌دست‌آمده در زمینه مصرف پروبیوتیک *L. plantarum* بر ترکیبات شیمیایی بدن و همچنین شاخص‌های تغذیه، از این پروبیوتیک به‌عنوان یکی از انواع محرک‌های فیزیولوژیک در پرورش گونه شاهمیگوی چنگال باریک آب شیرین می‌توان استفاده نمود.

منابع

- Aktaş, M., Ciğer, O., Genç, E., Genç, M.A., Çavdar, N. 2014. Effects of mannan oligosaccharide and serotonin on molting, growth, body composition and hepatopancreas histology of white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 14(1): 205-211.
- Ambas, I., Fotedar, R., Buller, N. 2015. Survival and immunity of Marron *Cherax cainii* (Austin, 2002) Fed *Bacillus mycoides* supplemented diet under simulated transport. Journal of Aquaculture Research & Development. 6: 390-396.
- Ambas, I., Suriawan, A., Fotedar, R. 2013. Immunological responses of customised probiotics-fed marron, *Cherax tenuimanus*, (Smith 1912) when challenged with *Vibrio mimicus*. Fish & Shellfish Immunology. 35(2): 262-270.
- AOAC. 1992. Official methods of analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. 771 p.
- Balcázar, J.L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Cunningham, D., Vendrell, D., Múzquiz, J.L. 2006. The role of probiotics in aquaculture. Veterinary Microbiology. 114(3-4): 173-186.
- Beck, B.R., Kim, D., Jeon, J., Lee, S.M., Kim, H.K., Kim, O.J., Lee, J.I., Suh, B.S., Do, H.K., Lee, K.H. 2015. The effects of combined dietary probiotics *Lactococcus lactis* BFE920 and *Lactobacillus plantarum* FGL0001 on innate immunity and disease resistance in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Fish & Shellfish Immunology. 42(1): 177-183.
- Castex, M., Daniels, C., Chim, L. 2014. Probiotic applications in crustaceans. In: Merrifield, D., Ringø, E. (eds.). Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics. Willey Blackwell. pp. 169-185.

- Cebeci, A., Gürakan, C. 2003. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. Food Microbiology. 20(5): 511-518.
- Dash, G., Raman, R.P., Prasad, K.P., Makesh, M., Pradeep, M., 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.
- Dash, G., Raman, R.P., Prasad, K.P., Makesh, M., Pradeep, M., Sen, S. 2015. Evaluation of paraprobiotic applicability of *Lactobacillus plantarum* in improving the immune response and disease protection in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). Fish & Shellfish Immunology. 43(1): 167-174.
- Dawood, M.A., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S. 2015. Interaction effects of dietary supplementation of heat-killed *Lactobacillus plantarum* and β -glucan on growth performance, digestibility and immune response of juvenile red sea bream, *Pagrus major*. Fish & Shellfish Immunology. 45(1): 33-42.
- De, B.C., Meena, D., Behera, B., Das, P., Mohapatra, P.D., Sharma, A. 2014. Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. Fish Physiology and Biochemistry. 40(3): 921-971.
- Didinen, B., Bahadır Koca, S., Metin, S., Diler, O., Erol, K., Dulluc, A., Koca, H., Yigit, N., Ozkok, R., Kucukkara, R. 2016. Effect of lactic acid bacteria and the potential probiotic *Hafnia alvei* on growth and survival rates of narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch., 1823) stage II juveniles. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 15(4): 1307-1317.
- Duc, P.M., Nhan, H.T., Hoa, T.T.T., Tao, H.M.H.C.T., An, C.M., Thy, D.T.M., Hai, T.N., Yoshitaka, H., Satoru, O. 2016. Effects of heat-killed *Lactobacillus plantarum* strain L-137 on growth performance and immune responses of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) via dietary administration. International Journal of Scientific and Research Publications. 6: 270-280.
- FAO. 2016. Aquaculture Department (2016) The state of world fisheries and aquaculture 2016. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 243 p.
- Fernandez, R., Sridhar, M., Sridhar, N. 2011. Effect of lactic acid bacteria administered orally on growth performance of *Penaeus indicus* (H. Milne Edwards) juveniles. Research Journal of Microbiology. 6(5): 466-479.
- Ghiasvand, Z., Matinfar, A., Valipour, A., Soltani, M., Kamali, A. 2012. Evaluation of different dietary protein and energy levels on growth performance and body composition of narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus*). Iranian Journal of Fisheries Sciences. 11(1): 63-77.
- Giri, S.S., Sukumaran, V., Oviya, M. 2013. Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* VSG3 improves the growth, immunity, and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*. Fish & Shellfish Immunology. 34(2): 660-666.
- Glencross, B., Booth, M., Allan, G. 2007. A feed is only as good as its ingredients—a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. Aquaculture Nutrition. 13(1): 17-34.
- Harlioglu, M., Farhadi, A. 2017. Iranian Fisheries Status: An Update (2004-2014). Fisheries and Aquaculture Journal. 8: 192-200.
- Harlioglu, M.M., Kutluyer, F., Gür, S. 2012. An investigation on the sperm number and reproductive parameters of males in wild caught freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus*, Eschscholtz). Animal Biology. 62(4): 409-418.
- Holdich, D.M. 2002. Biology of freshwater crayfish. Blackwell Science Oxford. 720 p.
- Hoseinifar, S.H., Dadar, M., Ringø, E. 2017. Modulation of nutrient digestibility and digestive enzyme activities in aquatic animals: the functional feed additives scenario. Aquaculture Research. 48(8): 3987-4000.
- Huynh, T.G., Chi, C.C., Nguyen, T.P., Tran, T.T.T.H., Cheng, A.C., Liu, C.H. 2018. Effects of synbiotic containing *Lactobacillus plantarum* 7-40 and galactooligosaccharide on the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Research. 49(1): 2416-2428.
- Jianlin, G., Youhui, W., Jinyun, Y., Jianming, C., Qian, P., Binqian, S. 2011. Effect of *Bacillus subtilis* on growth and body composition of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). Feed Industry. 22: 3-10

- Jussila, J., Evans, L.H. 1996. Impact of sump tank size on growth, survival, and production of marron, *Cherax tenuimanus*, in an intensive system. *Journal of Applied Aquaculture*. 6(3): 23-31.
- Karimpour, M., Harlioglu, M., Aksu, Ö. 2011. Status of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus*) in Iran. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*. 401: 1-18.
- Keysami, M.A., Mohammadpour, M. 2013. Effect of *Bacillus subtilis* on *Aeromonas hydrophila* infection resistance in juvenile freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture International*. 21(3): 553-562.
- Kongnum, K., Hongpattarakere, T. 2012. Effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *Vibrio harveyi*. *Fish & Shellfish Immunology*. 32(1): 170-177.
- Lin, H., Li, Z., Guo, Z., Feng, J., Wen, G., Ding, X. 2008. Effects of dietary probiotics on growth and biochemical composition of whole body of juvenile shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *South China Fisheries Science*. 4(6): 95-100.
- Mansour, M.R., Akrami, R., Ghobadi, S., Denji, K.A., Ezatrahimi, N., Gharaei, A. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Fish Physiology and Biochemistry*. 38(3): 829-835.
- Martínez Cruz, P., Ibáñez, A.L., Monroy Hermosillo, O.A., Ramírez Saad, H.C. 2012. Use of probiotics in aquaculture. *ISRN Microbiology*. 2012.
- Mazlum, Y., Gurlek, O.G., Sirin, S. 2017. Effect of different substrates on survival and growth of juveniles of the freshwater narrow-clawed crayfish *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 (Decapoda, Astacidae). *Crustaceana*. 90(11-12): 1289-1302.
- Mazlum, Y., Yilmaz, E., Genç, M., Guner, O. 2011. A preliminary study on the use of mannan oligosaccharides (MOS) in freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 juvenile diets. *Aquaculture International*. 19(1): 111-119.
- Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Jafarpour, A. 2012. Effects of dietary supplementation of synbiotic on growth performance, serum biochemical parameters and carcass composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Journal of animal physiology and animal nutrition*. 96(3): 474-481.
- Meshram, S., Shivananda Murthy, H., Swain, H., Ali, H., Jagadeesh, T., Dhamgaye, H. 2014. Effects of dietary beta-glucan on growth and body composition of *Macrobrachium rosenbergii*. *The Bioscan*. 9(2): 543-546.
- Miandare, H.K., Yarahmadi, P., Abbasian, M. 2016. Immune related transcriptional responses and performance of *Litopenaeus vannamei* post-larvae fed on dietary probiotic PrimaLac®. *Fish & Shellfish Immunology*. 55: 671-678.
- Mujeeb Rahiman, K., Jesmi, Y., Thomas, A.P., Mohamed Hatha, A. 2010. Probiotic effect of *Bacillus* NL110 and *Vibrio* NE17 on the survival, growth performance and immune response of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture Research*. 41(9): 120-134.
- Nayak, S.K. 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research*. 41(11): 1553-1573.
- Newaj-Fyzul, A., Al-Harbi, A., Austin, B. 2014. Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. *Aquaculture*. 431: 1-11.
- Safari, O., Atash, M.M.S., Paolucci, M. 2015. Effects of dietary L-carnitine level on growth performance, immune responses and stress resistance of juvenile narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. *Aquaculture*. 439: 20-28.
- Safari, O., Paolucci, M. 2017. Modulation of growth performance, immunity, and disease resistance in narrow-clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) upon synbiotic feeding. *Aquaculture*. 479: 333-341.
- Safari, O., Paolucci, M., Motlagh, H.A. 2017. Effects of synbiotics on immunity and disease resistance of narrow-clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Fish & Shellfish Immunology*. 64: 392-400.
- Safari, O., Shahsavani, D., Paolucci, M., Atash, M.M.S. 2014. Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements on the growth performance, nutrient digestibility,

- immune responses and stress resistance of juvenile narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. *Aquaculture*. 432: 192-203.
- Sajedi-Raad, A., Zamini, A., Valipour, A., Bakh, M. 2010. The effect of adding probiotic protexin in the diet of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus*) on growth and survival indices. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2(4): 29-36.
- Talpur, A.D., Ikhwanuddin, M., Abdullah, M.D.D., Bolong, A.M.A. 2013. Indigenous *Lactobacillus plantarum* as probiotic for larviculture of blue swimming crab, *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758): effects on survival, digestive enzyme activities and water quality. *Aquaculture*. 416: 173-178.
- Van Hai, N., Fotedar, R. 2009. Comparison of the effects of the prebiotics (Bio-Mos® and β -1, 3-D-glucan) and the customised probiotics (*Pseudomonas synxantha* and *P. aeruginosa*) on the culture of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896). *Aquaculture*. 289(3-4): 310-316.
- 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(5): 501-507.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 64(4): 655-671.
- Vieira, F., Buglione, C., Mourino, J., Jatobá, A., Martins, M., Schleder, D., Andreatta, E., Barraco, M., Vinatea, L. 2010. Effect of probiotic supplemented diet on marine shrimp survival after challenge with *Vibrio harveyi*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 62(3): 631-638.
- Yu, M.C., Li, Z.J., Lin, H.Z., Wen, G.L., Ma, S. 2009. Effects of dietary medicinal herbs and *Bacillus* on survival, growth, body composition, and digestive enzyme activity of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*. 17(4): 377-384.
- Zar, J.H. 2010. *Biostatistical Analysis*. 5th edition. Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey. 944 p.
- Zhang, C.N., Li, X.F., Xu, W.N., Zhang, D.D., Lu, K.L., Wang, L.N., Tian, H.Y., Liu, W.B. 2015. Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on growth performance, body composition, intestinal enzymes activities and gut histology of triangular bream (*Megalobrama terminalis*). *Aquaculture Nutrition*. 21(5): 755-766.
- Zheng, X., Duan, Y., Dong, H., Zhang, J. 2017. Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* in different treatments on growth performance and immune gene expression of white shrimp *Litopenaeus vannamei* under normal condition and stress of acute low salinity. *Fish & Shellfish Immunology*. 62: 195-201.
- Zokaeifar, H., Balcázar, J.L., Saad, C.R., Kamarudin, M.S., Sijam, K., Arshad, A., 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): 683-689.