تاثیر استفاده از ملاس و شیره ضایعات خرما بر بار باکتریایی آب، شاخص های رشد و بافت روده میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) در محیط بایوفلاک

اکبر عباس‌زاده[۱،۲*]، وحید یاوری[۱]، سید جواد حسینی[۳]، محمود نفیسی بهابادی[۳]

* Abas1351@gmail.com

۱-گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی، خرمشهر، ایران
۲-گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران
۳-پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۶

چکیده

هدف این تحقیق بررسی تاثیر بایوفلاک (با منابع قندی شیره ضایعات خرما و ملاس) بر کارایی رشد، بار باکتری‌های آب و بافت روده میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) با استفاده از سطوح مختلف پروتئینی بود. چهار تیمار بایوفلاک مشتمل بر بایوفلاک خرما+جیره با پروتئین ۲۵% (P25)، بایوفلاک ملاس+جیره با پروتئین ۲۵% (M_{25})، بایوفلاک خرما+جیره با پروتئین ۱۵% (P_{15}) و بایوفلاک ملاس+جیره با پروتئین ۱۵% (M_{15}) و یک تیمار شاهد (حاوی ۳۸% پروتئین) با ۳ تکرار بود. در یک دوره ۳۵ روزه ۳۵ قطعه میگوی جوان (۰/۳۳±۵/۳۷ گرم) به طور تصادفی در ۱۵ تانک ۳۰۰ لیتری (تراکم ۱۷۵ قطعه در متر مکعب) ذخیره‌سازی گردید. بالاترین میزان پارامترهای رشد (وزن به دست آمده، ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد و بازماندگی) در میگوهای تیمار P_{25} و کمترین آنها در تیمار شاهد دیده شد ($p<0/05$). بالاترین درصد شاخص وزن بدن، کارایی غذا و نرخ رشد ویژه در تیمار P_{25} و کمترین آن در تیمار M_{15} دیده شد ($p<0/05$). نتایج حاکی از افزایش تعداد باکتری‌های هتروتروف در طول پژوهش بود که در همه تیمارهای بایوفلاک از شاهد بیشتر بودند. بیشترین و کمترین تعداد قارچ‌ها، ویبریو و باسیلوس به ترتیب در تیمار P_{25} و شاهد مشاهده گردید. طول سلول‌های اپی‌تلیال در بافت روده در همه تیمارهای بایوفلاک نسبت به شاهد افزایش یافت اما این اختلاف فقط در اولین بند شکمی معنی‌دار بود. نتایج حاکی از برتری شیره خرما نسبت به ملاس بود که می‌تواند به دلیل حضور ترکیبات مفیدی چون محرک‌های رشد و ایمنی باشد.

کلمات کلیدی: میگوی وانامی، بافت روده، بایوفلاک، شیره ضایعات خرما، بار باکتریایی

* نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.14.9]
[DOI: 114973.2017.ISFJ/22092.1]

مقدمه

از موانع رشد صنعت آبزی‌پروری می‌توان به آلودگی ناشی از پساب مزارع تکثیر و پرورش، هزینه زیاد خوراک، کاهش زمین و منابع آبی مناسب، وابستگی بیش از حد به پودر ماهی برای تهیه غذای آبزیان و شیوع و گسترش بیماری‌ها اشاره کرد (Avnimelech, 2009). استفاده از تکنیک‌ها و فناوری‌های جدید و مناسب مانند تکنیک بایوفلاک (biofloc) در تکثیر و پرورش برخی از گونه‌های ماهی و میگو از اهمیت زیادی برخوردار بوده و می‌تواند اهداف آبزی‌پروری پایدار را تامین نماید. در این سیستم می‌توان تراکم را نیز افزایش داد و به یکی از شاخص های مهم توسعه آبزی پروری دست یافت (فارابی و همکاران، ۱۳۹۶). فناوری بایوفلاک از سیستم‌های آبزی‌پروری سازگار با محیط زیست است که مبتنی بر رشد میکروارگانیسم‌ها در محیط پرورشی است که حداقل تعویض آب را به همراه دارد و خود این امر نیز سبب کاهش احتمال فرار گونه های غیر بومی و ثبات تنوع زیستی می‌گردد (آیین جمشید و حق شناس، ۱۳۹۶). علاوه بر این سیستم بایوفلاک در مقیاس مزارع بزرگ می تواند مانع ورود پساب به سواحل و آلودگی آنها گردد و با جایگزین کردن پودر ماهی با ترکیبات بایوفلاک در تغذیه آبزیان می‌تواند سبب کاهش هزینه‌ها، بهبود ذخایر ماهیان غیر ماکول و افزایش غذای ماهیان ممتاز دریاها شود. از طرف دیگر با استفاده از سیستم بایوفلاک، سطوح مایکوتوکسین‌ها و فاکتورهای ضد تغذیه‌ای در خوراک آبزیان محدود می‌شود و میزان استفاده و نیاز به خوراک که هزینه‌های زیادی را در بردارد، کاهش می‌یابد (Kuhn *et al.*, 2010). این سیستم به دلیل محدود کردن تبادلات آبی، بازچرخ غذای خورده نشده و مواد دفعی از طریق تامین شرایط محیطی لازم برای رشد باکتری‌های هتروتروف و بهبود کیفیت آب، از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. رشد باکتری‌های هتروتروف با اضافه کردن کربوهیدرات به استخر تحریک شده و نیتروژن به وسیله این باکتری‌ها (پروتئین‌های میکروبی) جذب می‌گردد (Avnimelech, 2006). در بسیاری از تحقیقات گذشته بر اثرات مفید بایوفلاک بر رشد، بقا، کاهش ضریب تبدیل غذایی، بهبود عملکرد و افزایش ایمنی میگوی وانامی تاکید شده است (Ekasari *et al.*, 2014).

میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) یکی از مهمترین گونه‌های پرورشی میگو در ایران و جهان می‌باشد. با توجه به اهمیت صنعت پرورش این گونه در کشور، مطالعه روی سیستم جدید بایوفلاک و معرفی آن به صنعت میگوی کشور می‌تواند اهمیت زیادی در زمینه صرفه‌جویی در مصرف آب و زمین، استفاده از پروتئین کمتر در خوراک، تولید محصولات ارگانیک، ترویج سیستم‌های سازگار با محیط زیست داشته و در نهایت پرورش دهندگان میگو را به سمت بکارگیری این تکنولوژی تشویق نماید. در تحقیق حاضر تأثیر نسبت‌های مختلف پروتئین خوراک و منابع کربنی مختلف در سیستم بایوفلاک بر تغییر تعداد باکتری‌ها و قارچ‌ها در محیط پرورش، عملکرد رشد و بافت‌شناسی روده در میگوی سفید غربی مورد بررسی قرار گرفت و برای نخستین بار از شیره ضایعات خرما جهت تامین کربوهیدرات مورد نیاز سیستم بایوفلاک استفاده گردید. درخت خرما با نام علمی *Phoenix dactylifera* یک درخت باستانی است و شیره آن منبع ارزشمندی از ترکیباتی چون کربوهیدرات‌ها، فیبر، ویتامین‌های ضروری، مواد معدنی، چربی، پروتئین، رنگدانه‌ها، کارتنوئیدها، استرول‌ها و پروسیانیدین است که دارای فعالیت‌های ضد استرس، محرک رشد، اشتهاآور، محرک ایمنی (Hoseinifar *et al.*, 2015)، ضد میکروب و آنتی موتاژن (Vayalil, 2012)، ضد فساد، محافظ معده، کبد، کلیه و ضد سرطان می‌باشد (Ismail & Radzi, 2013).

مواد و روش‌ها

این مطالعه در تابستان ۱۳۹۴ در دانشکده کشاورزی دانشگاه خلیج فارس بوشهر در مدت ۵ هفته و با رژیم نوری ۱۲ ساعت روشنایی (۶۰۰ لوکس) انجام و پرورش میگو در تانک‌های حاوی بایوفلاک و بدون فلاک (شاهد) مقایسه گردیدند. قبل از شروع پژوهش، به مدت یک ماه سیستم بایوفلاک (Avnimelech, 2009) در دو آکواریوم ۴۰ لیتری برای تهیه ماده تلقیحی اولیه (Inoculum) و با استفاده از دو منبع کربنی متفاوت (ملاس و شیره ضایعات خرما) ایجاد و در این مدت فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آن اندازه‌گیری شدند. برای این منظور، آکواریوم‌ها با آب دریای فیلتر شده با شوری ۳۶ قسمت در هزار پر شده و به وسیله پمپ هوا شدیدا هوادهی شدند تا اکسیژن مورد نیاز تامین و اختلاط اجزای موجود در آکواریوم بخوبی صورت پذیرد. سپس مواد لازم برای تهیه دو نوع بایوفلاک خرما و ملاس به آکواریوم‌ها اضافه گردید (جدول ۱). در هر یک از آن‌ها، ۱۰ لیتر از آب کانال خروجی استخرهای پرورش میگو (سرشار از باکتری، جلبک و آغازیان) پس از

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.14.9]
[DOI: 114973.2017.ISFJ/22092.1]

عبور از تور ۳۰۰ میکرونی استفاده گردید. به منظور تقویت فعالیت باکتری‌های هتروتروف جهت تشکیل بایوفلاک، نسبت کربن به ازت (C/N) در تانک‌ها بین ۱۵ تا۲۰ در نظر گرفته شد (Avnimelech, 1999). در این تحقیق از ۵ تیمار و ۳ تکرار و در مجموع ۱۵ تانک ۳۰۰ لیتری استفاده شد که هر کدام تا ۲۰۰ لیتر از آب پر شدند. تیمارهای آزمایش شامل چهار تیمار بایوفلاک مشتمل بر بایوفلاک خرما+جیره با پروتئین ۲۵% (P_{25})، بایوفلاک ملاس+جیره با پروتئین ۲۵% (M_{25})، بایوفلاک خرما+جیره با پروتئین ۱۵% (P_{15}) و بایوفلاک ملاس+جیره با پروتئین ۱۵% (M_{15}) و یک تیمار شاهد (حاوی ۳۸% پروتئین) با ۳ تکرار بود. با احتساب تراکم ۱۲۰ قطعه میگو در متر مربع (۱۷۵ قطعه در متر مکعب)، در هر یک از تانک‌ها ۳۵ قطعه میگو ذخیره‌سازی گردید. میگوهای جوان به وزن ۰/۳۳±۵/۳۷ گرم از مزرعه پرورشی دلوار ۱ به سالن منتقل و پس از ضدعفونی و گذراندن دوره قرنطینه (۷۲ ساعت) به طور تصادفی در ۱۵ تانک ذخیره‌سازی شدند (۶ تانک بایوفلاک خرما، ۶ تانک بایوفلاک ملاس و ۳ تانک شاهد حاوی آب فیلتر شده دریا بدون بایوفلاک). برای تغذیه میگوها از سه نوع جیره ایزوانرژیتیک با مقادیر ۳۸، ۲۵ و ۱۵ درصد پروتئین استفاده گردید. جیره به وسیله نرم افزار Lindo طراحی و اجزای آن از شرکت هوواراش بوشهر تهیه گردید. ترکیبات جیره‌ها شامل پودر ماهی، سویا، آرد ذرت، روغن ماهی، آرد گندم، روغن سویا، لستین، آنتی اکسیدان، مخلوط ویتامینه و مواد معدنی بود. سپس تانک‌ها با آب دریای فیلتر شده (شنی) تا ۲۰۰ لیتر پر شده و جهت تشکیل بایوفلاک به هر تانک دو لیتر (۱%) از بایوفلاک آکواریوم ملاس یا شیره خرما به عنوان ماده تلقیحی اضافه شد. در تانک‌های شاهد، تعویض آب به شیوه مرسوم و روزانه ۵۰% آن با آب فیلتر شده تعویض گردید.

در تیمارهای بایوفلاک، فقط تبخیر آب با اضافه نمودن آب شیرین بدون کلر جایگزین گردید بطوریکه شوری نزدیک به ۳۶ گرم در لیتر و بدون تغییرات معنی-دار ثابت ماند. غذادهی در سه نوبت (ساعات ۸، ۱۴ و ۲۲) به میزان ۴ درصد وزن کل بدن انجام گرفت (Liu *et al.*, 2014). میزان قند موجود در ملاس و شیره خرما به وسیله دستگاه قندسنج دیجیتال مدل Atago PAL-3 سنجیده شد. قند کل موجود در ملاس و در شیره خرمای مورد استفاده (انواع قندها شامل ساکارز، گلوکز، فروکتوز و سایر قندها با نسبت‌های متفاوت) به ترتیب ۷۴ و ۷۹ درصد بود.

جدول ۱: مقدار ترکیبات لازم (گرم) برای تولید بایوفلاک در آکواریوم ۴۰ لیتری (برگرفته از (Avnimelech, 2009) با اندکی تغییر)

Table 1: The amount of essential compounds (g) for biofloc production in a 40-liter aquarium (Avnimelech, 2009) with slightly changed

خاک رس	اوره	سوپرفسفات	آرد گندم	شیره ضایعات خرما	ملاس	خوراک میگو	تیمار
۱	۱	۱	۱۰	----------	۱۰	۸	بایوفلاک ملاس
۱	۱	۱	۱۰	۱۰	---------	۸	بایوفلاک خرما

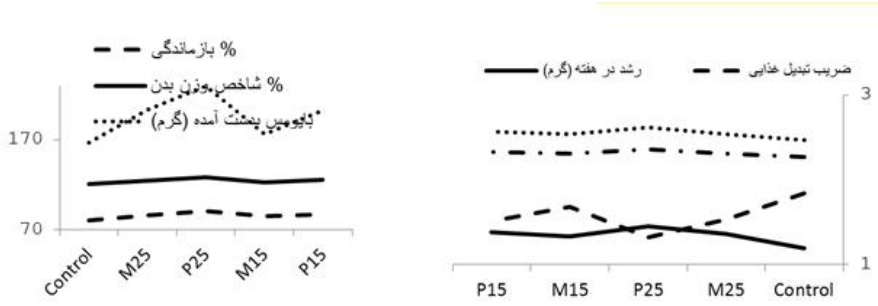
برای هر ۱۰۰ گرم غذا در تیمار ۲۵% و ۱۵% پروتئین، به ترتیب ۱۴۴ و ۸۶ گرم از شیره خرما و ملاس بعد از وعده دوم غذایی (ساعت ۱۴) اضافه گردید (Ebeling *et al.*, 2006). نمونه‌های میگو با وزن و طول نزدیک به هم انتخاب و به مدت ۲۴ ساعت در محلول دیویدسون فیکس شدند. پس از شستشو با الکل اتانول آبگیری و به منظور پارافینه کردن، درون پارافین (Merck) مایع قرار داده شدند و پس از آن قالب‌گیری شدند. توسط میکروتوم، برش‌هایی به ضخامت ۴ میکرون از بافت تهیه شد. سپس لامها به روش هماتوکسیلین-فوشین رنگ‌آمیزی شده و توسط میکروسکوپ نوری Olympus مورد مطالعه و عکسبرداری قرار گرفتند. تعداد ۶۰ عدد لام که بر روی هر کدام ۸ مقطع بافتی از روده قرار گرفته بود، انتخاب شدند. در نهایت با استفاده از دوربین Microbin عکس‌برداری و با نرم‌افزار AxioVision Rel. 4.8، میانگین طولی سلولهای اپیتلیال بندهای اول، دوم و سوم شکمی به طور جداگانه مورد سنجش قرار گرفتند (Khodabandeh *et al.*, 2006). برای شمارش تعداد کل باکتری‌ها، روش گسترش در پلیت استفاده شد. نمونه‌های آب از همه تانک‌ها و هر هفته تهیه شد. برای شمارش تعداد کل، ۱ میلی‌لیتر از آب تانک برداشت و بصورت رقت‌های سریالی ۱ به ۱۰ رقیق و با استفاده از نرمال سالین فیزیولوژی استریل تا حد 10^{-5} رقیق شد. سپس این محلول‌های رقیق در پلیت Trypton soya agar (TSA, MERCK) with 3.0% w/v NaCl برای شمارش باکتری، Thiosulfate citrate bile salt sucrose agar

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.14.9]
[DOI: 114973.2017.ISFJ/22092.1]

(TCBS, MERCK) برای شمارش ویبریو، *Bacillus cereus* agar (BBL, USA) برای شمارش باسیلوس و از Sabouraud dextrose agar (SDA, MERCK) برای شمارش قارچ استفاده شد. سپس پلیت‌ها در دمای ۲۹ درجه به مدت ۷ روز برای شمارش قارچ و به مدت ۲ روز برای شمارش باکتری‌ها درون انکوباتور قرار گرفته و تعداد کلنی بر اساس Colony Forming Units (CFU) بدست آمد. تعداد کلنی‌ها در میلی‌لیتر با استفاده از تعداد آنها ضرب در فاکتور رقت به دست آمد(Anand *et al.*, 2014). تحقیق حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار تغذیه‌ای متفاوت و ۳ تکرار اجرا و پس از استخراج داده‌ها، مقایسه صفات مورد آزمایش از طریق آنالیز واریانس و مقایسه میانگین آزمون دانکن در سطح ۵% انجام گردید. برای انجام آنالیزهای فوق از نرم‌افزار SPSS17 استفاده گردید.

نتایج

عملکرد فاکتورهای رشد در شکل ۱ آمده است. بیشترین درصد شاخص وزن بدن، نرخ رشد ویژه و کارایی تبدیل غذایی در تیمار P_{25} و کمترین آنها در تیمار M_{15} به دست آمده است. بیشترین افزایش وزن توده زنده در تیمار P_{25} و کمترین آن در تیمار شاهد به دست آمده است و بقیه تیمارها نیز با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۵$). همچنین بیشترین نرخ رشد (گرم در هفته) و درصد بازماندگی در تیمار P_{25} و کمترین آن‌ها در تیمار شاهد محاسبه شد. کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار P_{25} و بیشترین آن در تیمار شاهد سنجش گردید. بیشترین مقدار نسبت بازده پروتئین در تیمار P_{15} (۰/۱۷±۰/۰۱۶) و کمترین آن در تیمار شاهد (۰/۰۶۵±۰/۰۰۲) بدست آمد که با همه تیمارهای بایوفلاک اختلاف معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). تعداد کل باکتری‌های هتروتروف (THB)، باسیلوس، ویبریو و قارچ‌ها (بر حسب $CFU\ mL^{-1}$) و نوسانات آن‌ها در تیمارهای این پژوهش در جدول ۲ نشان داده شده است. تراکم THB در تمام تیمارهای بایوفلاک از شاهد بیشتر بود. تعداد THB در تیمار شاهد $۳۶/۹۱\times۱۰^{۴}$ کلنی در میلی لیتر ($CFU\ mL^{-1}$) بود که در تیمار P_{25} به $۷۸۶/۴۹\times۱۰^{۴}$ کلنی در میلی لیتر در انتهای دوره افزایش یافت.



شکل ۱: تغییرات فاکتورهای رشد در میگوهای آزمایشی در تیمارهای مختلف.

Figure 1: Growth factor changes of experimental shrimps in different treatments.

تعداد ویبریوها در تیمارهای بایوفلاک بطور معنی‌داری از شاهد بالاتر بود ($p<۰/۰۵$). بیشترین تعداد جنس‌های ویبریو و باسیلوس در تیمار P_{25} به ترتیب $۱۰^{۴}\times(۱۸۷/۸۳\pm۱۴۴/۵)$ و $(۱۵۶/۰۲\pm۱۰۴/۳)$ کلنی در میلی لیتر و کمترین آن $۱۰^{۴}\times(۰/۰۹۸\pm۰/۰۵۴)$ و $(۰/۱۲۶\pm۰/۰۸۶)$ کلنی در میلی لیتر در تیمار شاهد شمارش گردید. نتایج مشابهی از افزایش تعداد باکتری‌ها در مورد قارچ‌ها نیز دیده شد. در طول این مطالعه، میانگین تعداد قارچ‌ها از $۱۰^{۴}\times(۰/۰۲۲\pm۰/۰۰۸۴)$ کلنی در میلی لیتر در تیمار شاهد به $۱۰^{۴}\times(۳/۰۶\pm۲/۳۶)$ کلنی در میلی لیتر در تیمار P_{25} افزایش یافت. در هر سه بند شکمی، طول سلول‌های اپیتلیال روده در تمام تیمارهای بایوفلاک نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری یافت که این افزایش طول در بند اول شکمی در بین خود تیمارهای بایوفلاک نیز معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.14.9]
[DOI: 114973.2017.ISFJ/22092.1]

جدول ۲: تغییرات بار باکتریایی و قارچی در تیمارهای آزمایشی بر حسب کلنی در میلی لیتر.

Table 2: Bacterial and fungal changes in experimental treatments per colony forming unit.

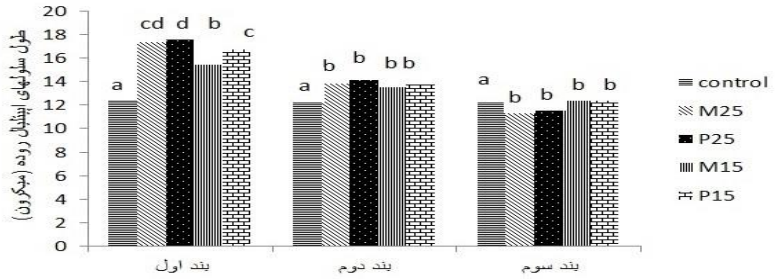
تیمار	تعداد کل باکتری هتروتروف	ویبریو	باسیلوس	قارچ
شاهد	۳۶/۹۱±۲۱/۳۴^{a}	۰/۱۳±۰/۰۹^{a}	۰/۱۰±۰/۰۶^{a}	۰/۰۲±۰/۰۱^{a}
M_{25}	۶۹۴/۲۴± ۴۳۸/۵۲^{b}	۱۲۲/۲۷±۱۲۷/۰۴ ^{b}	۱۷۵/۰۲±۱۳۲/۶۱^{b}	۲/۷۴±۲/۱۵^{b}
P_{25}	۷۸۶/۴۹±۵۱۷/۲۱ ^{b}	۱۵۶/۰۲±۱۰۴/۳۲^{b}	۱۸۷/۸۳±۱۴۴/۵۵^{b}	۳/۰۶±۲/۳۶^{b}
M_{15}	۵۹۰/۵۴±۳۳۱^{b}	۷۰/۳۵±۶۳/۸۹^{ab}	۱۴۴/۳۲±۱۱۶/۵۱^{ab}	۲/۲۲±۱/۸۲^{ab}
P_{15}	۶۱۸/۴۱±۳۵۵/۹۱^{b}	۱۰۸/۸۸±۹۶/۹۲^{ab}	۱۵۸/۵۳±۱۲۵/۰۵^{ab}	۲/۴۲±۱/۸۱^{ab}

مقادیر میانگین سه تکرار±انحراف معیار در هر تیمار می باشند (تمام اعداد مضربی از $۱۰^{۴}$ هستند). در هر ردیف میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه با هم اختلاف معنی داری ندارند ($p>۰/۰۵$).

بیشترین افزایش طول سلول‌های اپیتلیال روده به میزان ۳۸ درصد و در تیمار P_{25} در بند اول شکمی مشاهده گردید (شکل ۲). آزمایشات بافت شناسی مقاطع روده، افزایش طول میکروویلی‌ها را در روده تایید نمود (شکل ۳).

بحث

در مطالعه حاضر یکی از محیط‌های کشت بایوفلاک، با استفاده از منبع کربنی شیره ضایعات خرما ایجاد گردید. در دو تیمار استفاده شده در این مطالعه با میزان پروتئین کم (M_{15} و P_{15})، جدا از میزان پروتئین، احتیاجات غذایی آنها شامل اسیدهای آمینه نظیر لایزین، متیونین و دیگر مواد غذایی مورد نیاز میگوهای دریایی تهیه و به جیره اضافه گردید (Davis & Arnold, 2000). پارامترهای کیفی آب (دما، PH، اکسیژن محلول، آمونیاک، نیتریت و نیترات) برای پرورش میگوی وانامی در این پژوهش برای همه تیمارها در دامنه مناسب قرار داشت و تغییرات معنی‌داری نداشتند (Serra *et al*., 2015).



شکل ۲: رشد سلول‌های اپیتلیال در بندهای اول تا سوم روده میگوهای آزمایشی در تیمارهای مختلف. حروف لاتین غیر یکسان در راس ستونها بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بین بندهای مختلف شکمی میگوی وانامی می باشد.

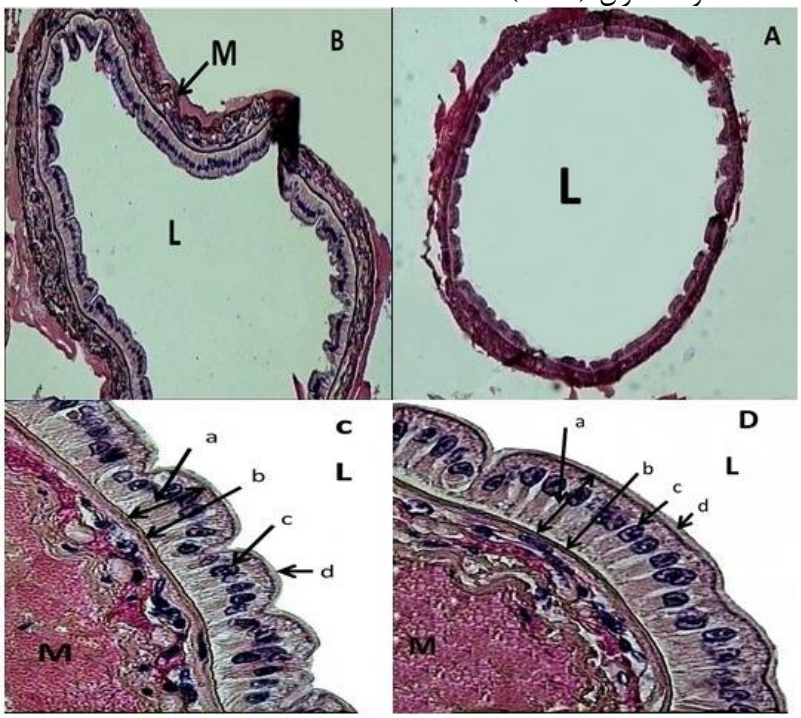
Figure 2: Epithelial cells growth in the first to third of abdominal sections of experimental shrimp in different treatments.

رشد و بقای بیشتر در تیمارهای بایوفلاک در این آزمایش حاکی از نقش مثبت بایوفلاک بعنوان جزیی از جیره میگو بوده که سبب افزایش نرخ رشد شده که این نتایج در آزمایشات دیگر محققان نیز تایید شده است(Burford *et al*., 2003). استفاده از غذای زنده (باکتری، قارچ، جلبک‌ها و سایر آغازیان) بعنوان جزیی از تغذیه روزانه در سیستم بایوفلاک و به علت وجود ترکیبات محرک ایمنی در ساختمان آن‌ها سبب بهبود ایمنی و در نتیجه افزایش درصد بازماندگی در تیمارهای بایوفلاک گردیده که در مطالعات دیگر نیز به اثبات رسیده است (Taw, 2010). ترکیب اصلی باکتری‌های توسعه یافته در بایوفلاک متعلق به باکتری‌های *Bacillus* sp. ,*Lactobacillus* sp. و خانواده Vibrionaceae است (Anand *et al*., 2014). بایومس و ترکیب جوامع میکروبی در طول زمان تحت شرایط بایوفلاک تغییر کرده و تحت تاثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند. فاکتورهای متعددی چون نور خورشید، کربوهیدرات، شوری و نوع سیستم کشت بر ترکیب میکروبی بایوفلاک تاثیر می‌گذارند. برخی از محققین بر این باورند که حضور باسیلوس و ویبریو در بایوفلاک نشان می‌دهد که بایوفلاک می‌تواند منبعی از پروبیوتیک‌های بالقوه باشد (Ferreira *et al*., 2015). رشد و بقای بالاتر

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.14.9]
[DOI: 114973.2017.ISFJ/22092.1]

در میگوها با استفاده از پروبیوتیک باسیلوس گزارش شده است (Rengpipat *et al*., 1998).

برخی از محققین (Aguilera-Rivera *et al*., 2014) دریافتند که باکتری‌های مفیدی چون برخی گونه‌های ویبریو با شرکت در هموستازی سبب افزایش بقا شده و از طغیان باکتری‌های بیماری‌زای فرصت طلبی چون *Photobacterium damselae* جلوگیری می‌کنند (Fouz *et al*., 2000). افزایش معنی‌دار در تعداد کل باکتری‌های هتروتروف در بایوفلاک با افزایش منبع کربنی حاکی از نیاز باکتری‌ها به کربن می‌باشد. برخی از مطالعات پیشین نشان داده است که تعداد باکتری‌های هتروتروف با افزایش نسبت کربن به نیتروژن در محیط پرورش میگوهای پنائیده افزایش می‌یابند (Burford *et al*., 2003; Avnimelech, 2009). تعداد کل باکتری‌ها در این آزمایش به میزان ۷۸۶×۱۰^{۴} کلنی در میلی‌لیتر رسید که به یافته‌های محققین دیگر نزدیک بود (Burford *et al*., 2003). برخی از محققین چون Irasema و همکاران (۲۰۱۵) این مقدار را ۸۱۶×۱۰^{۴} کلنی در میلی لیتر (شوری ۳۵ قسمت در هزار) و بعضی مانند Anand و همکاران (۲۰۱۴) تعداد ویبریو را ۲۴۰×۱۰^{۴} کلنی در میلی لیتر و تعداد باسیلوس را ۳۴۵×۱۰^{۴} کلنی در میلی لیتر در انتهای دوره ذکر نموده‌اند. این اختلافات جزیی می‌تواند به فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب، گونه پرورشی و نوع ماده قندی مرتبط باشد (Avnimelech, 2009). تعداد باکتری‌ها و قارچ‌ها در بایوفلاک شیره خرما بیشتر از تیمار ملاس بود. این اختلاف احتمالا می‌تواند به این دلیل باشد که شیره خرما منبعی غنی از ویتامین‌ها، مواد معدنی و دیگر مواد ضروری برای رشد باکتری‌ها است(Vayalil, 2012) و از این رو بر ملاس برتری داشت. همچنین کربوهیدرات‌های شیره خرما، بیشتر از قندهای ساده‌ای چون گلوکز و فروکتوز تشکیل شده است که هضم و جذب آن نسبت به قندهای پیچیده ملاس برای باکتری‌ها آسان‌تر است (Hoseinifar *et al*., 2015). علاوه بر این اختلاف معنی‌داری در تعداد باکتری‌ها بین جیره‌های با پروتئین ۱۵ و ۲۵ درصد در تیمارهای بایوفلاک دیده شد که این اختلاف به برتری محیط از نظر میزان مواد غذایی (پروتئین) مورد نیاز و دسترسی بیشتر به ازت و ماده کربنی در تیمارهای M_{25} و P_{25} مربوط می‌باشد.



شکل ۳: برش عرضی بافت روده میگوهای آزمایشی (M: ماهیچه و L: فضای لومن است. در تصویر فوق سلولهای اپیتلیال روده (a) مشخص شده که برروی غشای پایه (b) قرار گرفته‌اند و در سطح آن‌ها میکروویلی‌ها (d) قرار دارند و هسته (c) سلول اپیتلیال کاملا مشخص می‌باشد. با استفاده از نرم افزار AxioVision Rel. 4.8، میانگین طول سلول‌های اپیتلیال روده (فلش تیره) اندازه‌گیری شد. بزرگنمایی ۱۰۰ (A)، ۶۰۰ (B)، ۲۴۰۰ (C) تیمار شاهد و۲۴۰۰ (D) تیمار بایوفلاک. رنگ آمیزی هماتوکسیلین-فوشین)

Figure 3: Cross sectional view of the intestinal tissue of experimental shrimp.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.14.9]
[DOI: 114973.2017.ISFJ/22092.1]

از آنجایی که باکتری‌های موجود در بایوفلاک معمولا از جنس‌هایی چون باسیلوس تشکیل شده‌اند که از اجزای اصلی پروبیوتیک‌ها نیز می‌باشند، بنظر می‌رسد می‌توان آنها را با هم مقایسه نمود. تاثیرات مثبت ناشی از باکتریهای پروبیوتیک بر بافت روده آبزیان، افزایش بقا، بهبود فاکتورهای رشد، افزایش مقاومت به بیماری‌ها و بهبود ضریب تبدیل غذایی به اثبات رسیده است. برخی محققین علت اصلی تاثیر مثبت باکتریهای پروبیوتیک را بر فاکتورهای رشد آبزیان و میگو، سهولت و افزایش جذب مواد غذایی از روده عنوان نموده‌اند (Sha *et al*., 2016).

متاسفانه مطالعه‌ای در خصوص تاثیر باکتری‌های بایوفلاک بر بافت روده آبزیان انجام نشده است که بتوان نتایج آن را با این مطالعه مقایسه نمود. برخی از محققین دریافتند که تحت تاثیر نوکلئوتید جیره، طول سلولهای اپیتلیال در روده میگوی سفید غربی افزایش یافته است (Oujifard *et al*., 2011). در این پژوهش نیز هرچند که طول سلول‌های اپی‌تلیال در تمام بندهای روده در تیمارهای بایوفلاک نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. اما از آنجا که طول سلولهای اپیتلیال روده فقط در بند اول شکمی افزایش معنی‌داری داشت، می‌توان اذعان نمود که بیشترین میزان جذب مواد مغذی موجود در بایوفلاک در بند اول شکمی میگوی وانامی بود زیرا مواد غذایی پس از هضم ابتدا از این بخش روده عبور می‌کنند. همچنین با توجه به تراکم زیاد میکروارگانیسم‌ها و مواد غذایی در بایوفلاک و به دلیل نیاز به بالا بردن راندمان جذب، ممکن است طول سلول‌های اپی‌تلیال در ناحیه قدامی روده افزایش یافته باشد. بنابراین می‌توان گفت که یکی از دلایل بهبود فاکتورهای رشد در بایوفلاک می‌تواند ناشی از اثرات مثبت آن بر دستگاه گوارش و افزایش جذب باشد. همچنین نتایج حاکی از تاثیر بهتر شیره خرما جهت تامین کربوهیدرات مورد نیاز سیستم بایوفلاک نسبت به ملاس بود که می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات مفیدی چون محرک‌های رشد و ایمنی در خرما باشد.

تشکر و قدردانی

از همکاران ارجمند، دانشجویان گرامی، سرکار خانم آویژگان مسئول آزمایشگاه بافت‌شناسی پژوهشکده خلیج فارس و تمام دوستانی که در مراحل مختلف این پژوهش مرا یاری نمودند، تشکر و سپاسگزاری می‌نمایم.

منابع

آیین جمشید، خ. و حق شناس، خ.، ۱۳۹۶. ارزیابی ریسک زیست محیطی فعالیت مراکز تولید میگوی عاری از بیماری خاص. مجله علمی شیلات ایران، ۴(۲۶): ۸۲-۷۳.

فارابی، س.م.و.، متین‌فر، ع.، صالحی، ع.ا. و شریفیان، م.، ۱۳۹۶. بررسی تراکم ذخیره‌سازی میگو پاسفید *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) در پرورش با آب لب شور دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، ۳(۲۶): ۷۶-۶۵.

Aguilera-Riveraa, D., Prieto-Davóc, A., Escalanteb, K., Chávezd, C., Cuzone, G. and Gaxiolab, G., 2014. Probiotic effect of FLOC on Vibrios in the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, pp: 424-425, 215-219. DOI: 10.1016/ j.aquaculture.2014.01.008

Anand, P.S., Kohli, M.P., Kumar, S., Sundaray, S., Venkateshwarlu, G., Sinha, A. and Pailan, G.H., 2014. Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. Aquaculture, 418: 108-115. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.09.051.

Avnimelech, Y., 2009. Biofloc Technology- A Practical Guide Book. Baton Rouge, Louisiana, US. 182 p.

Avnimelech, Y., 2006. Bio-filters: the need for an new comprehensive approach. Aquacultural Engineering, 34: 172-178. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2005.04.001.

Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture, 176: 227-235. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00085-X

Burford, M.A., Costanzo, S.D., Dennison, W.C., Jackson, C.J., Jones, A.B., McKinnon, A.D., Preston, N.P. and Trott, L.A., 2003. A synthesis of dominant ecological processes in intensive

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.14.9]
[DOI: 114973.2017.ISFJ/22092.1]

shrimp ponds and adjacent coastal environments in NE Australia. Marine Pollution Bulletin, 46: 1456-1469. DOI: 10.1016/S0025-326X(03)00282-0.

Davis, D.A. and Arnold, C.R., 2000. Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 185:291-298.

Ebeling, J., Timmons, M. and Bisogni, J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. Aquaculture, 257: 346-358.

Ekasari, J., Angela, D., Hadi, S., Bachtiar, T., Surawidjaja, E., Bossier, P. and Schryver, P., 2014. The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. Aquaculture, pp: 426-427, 105-111. DOI: 10.1016/j. aquaculture.2014.01.023.

Ferreira, G.S., Bolívar, N.C., Pereira, S.A., Guertler, C., Vieira, F.V., Mouriño, J.L.P. and Seiffert, W.Q., 2015. Microbial biofloc as source of probiotic bacteria for the culture of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 448: 273-279. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.06.006.

Hoseinifar, S.H., Khalili, M., Rufchaei, R., Raeisi, M., Attar, M., Cordero, H. and Esteban, M., 2015. Effects of date palm fruit extracts on skin mucosal immunity, immune related genes expression and growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. Fish and Shellfish Immunology, 47(2): 706-711. DOI: 10.1016/j.fsi.2015.09.046.

Irasema, E.L., Domenico, V., Juan, M.A.N., María, R.P.M., Víctor, H.E. and Emilio, R.B., 2015. Effects of biofloc promotion on water quality, growth, biomass yield and heterotrophic community in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) experimental intensive culture. Italian Journal of Animal Science, 14: 332-337. DOI: 10.4081/ijas.2015.3726.

Ismail, W. and Radzi, M., 2013. Alternative and integrative medicine evaluation on the benefits of date palm (*Phoenix dactylifera*) to the brain. Dissertation, Universiti Teknologi MARA, Malaysia.

Khodabandeh, S., Charmantier, G. and Charmantier-Daures, M., 2006. Immunolocalization of Na^+ , K^+- ATPase in osmoregulatory organs during the embryonic and post-embryonic development of the lobster *Homarus gammarus*. Journal of Crustacian biology, 26(4): 515-523.

Kuhn, D., Boardman, G.D., Lawrence, A.D., Marsh, L. and Flick, G.J., 2009. Microbial floc meal as a replacemen tingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. Aquaculture, 296: 51-57.
DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.07.025.

Liu, L., Hu, Z., Dai, X. and Avnimelech,Y., 2014. Effects of addition of maize starch on the yield, water quality and formation of bioflocs in an integrated shrimp culture system. Aquaculture, pp: 418-419, 79-86. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.10.005.

Oujifard, A., Abedian Kenari, A., Taheri, A. and Ghanizadeh Kazerouni, E., 2011. Effected by dietary nucleotide on changes in intestinal morphology, growth and fatty acid profile of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Iranian Sientific Fisheries Journal, 20(4): 1-10.

Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta,

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.14.9]
[DOI: 114973.2017.ISFJ/22092.1]

P., 1998. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture, 167: 301-313.
DOI: 10.1016/S0044-8486(98)00305-6.

Serra, F.P., Gaona, C.A.P., Furtado, P., Poersch, L.H. and Wasielesky, W., 2015. Use of different carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture International: Journal of the European Aquaculture Society, 23(6): 1325-1339.
DOI: 10.1007/s10499-015-9887-6.

Sha, Y., Liu, M., Wang, B., Jiang, K., Qi, C. and Wang, L., 2016. Bacterial population in intestines of Litopenaeus vannamei fed different probiotics or probiotic supernatant. Journal of Microbiology and Biotechnology, 26(10): 1736-1745.

Taw, N., 2010. Biofloc technology expanding at white shrimp ponds farms. Global Aquaculture Advocate, 13(3): 20-22.

Vayalil, P., 2012. Critical reviews in food science and nutrition, date fruits (*Phoenix dactylifera* Linn): An emerging medicinal food. Department of Pathology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham magazine, pp: 249–271.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.14.9]
[DOI: 114973.2017.ISFJ/22092.1]

Effects of molasses and spoilage date palm extract on bacterial load of water, growth performance and intestine of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in the biofloc technology

Abbaszadeh A.[1,2*]; Yavari V.[1]; Hoseini S.J.[3]; Nafisi Bahabadi M.[3]

[*] Abas1351@gmail.com

1-Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

2-Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr, Iran.

3-Persian Gulf Research Center, University of Persian Gulf, Bushehr, Iran.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of biofloc (with addition of spoilage date palm extract (SDE) and molasses as sugar sources) on bacterial load of water, growth performance and intestine of *Litopenaeus vannamei* using diets containing different protein levels. Four biofloc treatments were designated including the biofloc treatment with SDE + a diet containing 25% protein (P_{25}), biofloc treatment with molasses + a diet containing 25% protein (M_{25}), biofloc treatment with SDE + a diet containing 15% protein (P_{15}), biofloc treatment with molasses + a diet containing 15% protein (M_{15}) and the control treatment with a diet containing 38% protein (Control). All treatments were conducted in triplicates. A 35-day study was conducted on 35 juvenile shrimp (with average weight of 5.37±0.33 g) which randomly stocked in fifteen tanks (each 300 L) at a stocking density of 175 shrimp m^{-3}. The highest amounts of growth parameters (weight gain, Feed Conversion Ratio (FCR), growth rate and survival) were observed in P_{25} treatment and the lowest amounts of growth parameters were observed in the control ($p<0.05$). Moreover, the highest percentages of body weight index, feed efficiency and specific growth rate were observed in P_{25} and the lowest percentages of those were observed in M_{15} treatment ($p<0.05$). Results showed that the number of total heterotrophic bacteria was increased during the study and the numbers of total heterotrophic bacteria in all biofloc treatments were higher than that of the control. The highest and the lowest numbers of fungi, *vibrio* and *bacillus* were found in P_{25} treatment and the control treatment, respectively. The length of the epithelial cells of the intestine was increased in all biofloc treatments as compared to the control but this difference was significant in the first abdominal segment, only. The result demonstrated that the effects of SDE were better than molasses, which could be due to the presence of useful compounds such as the growth and immunity promoters in it.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*, Intestinal tissue, Biofloc, Spoilage date palm extract, Bacterial load.

*Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.14.9]

[DOI: 114973.2017.ISFJ/22092.1]