

مقایسه روش های مختلف آماده کردن جیره خوراک فراسودمند حاوی پروبیوتیک بومی تک سل بر شاخص های رشد پست لارو میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

مریم میربخش^{*}، مهزاد برنجی^۲، ژاله مهاجری برازجانی^۲، بابک قائدینیا^۱، محمد علی نظاری^۳

*maryam.mirbakhsh@gmail.com

۱- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۲- گروه منابع طبیعی و شیلات، واحد بوشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، بوشهر، ایران

۳- پژوهشکده میگوی کشور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۹

چکیده

در دهه اخیر استفاده از خوراک فراسودمند حاوی پروبیوتیک ها مورد توجه پرورش دهندگان آبزیان قرار گرفته و یکی از موارد مورد توجه روش افزودن پروبیوتیک ها به خوراک آبزیان از جمله میگو می باشد. در این پژوهش، اثربخشی روش های مختلف آماده کردن جیره خوراک فراسودمند حاوی پروبیوتیک بومی تک سل بر عملکرد رشد میگوی سفید غربی مورد مقایسه قرار گرفت. بدین منظور پست لاروهای میگو در هشت تیمار آزمایشی با پروبیوتیک تک سل (دوزهای 10^6 ، 10^7 و 10^8 واحد تشکیل دهنده کلونی در هر کیلوگرم ($CFU\ kg^{-1}$) به دو صورت جیره های حاوی پروبیوتیک مخلوط شده در پلت و جیره های حاوی پروبیوتیک اسپری شده بر پلت و جیره فاقد پروبیوتیک (شاهد)، به مدت ۴۰ روز در تانک مورد تغذیه قرار گرفتند. تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی پروبیوتیک عملکرد بهتری در نرخ رشد ویژه، نرخ رشد نسبی، بازماندگی و ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه های شاهد نشان دادند ($p < 0.05$). بیشترین افزایش شاخص های رشد در تیمار پروبیوتیک اسپری شده بر پلت با دوز $10^8\ CFU\ kg^{-1}$ مشاهده گردید که با تیمارهای حاوی پروبیوتیک مخلوط شده در پلت اختلاف معنی داری نداشت ($p > 0.05$). نتایج این پژوهش نشان داد که خوراک فراسودمند حاوی پروبیوتیک بومی تک سل صرف نظر از دوز و روش آماده سازی جیره منجر به بهبود شاخص های رشد و بازماندگی در میگوی سفید غربی می شوند و دوزهای $CFU\ kg^{-1}$ 10^7 و 10^8 دارای بیشترین اثر بود.

لغات کلیدی: خوراک فراسودمند، پروبیوتیک بومی، میگوی سفید غربی، عملکرد رشد، جیره غذایی

*نویسنده مسئول

مقدمه

صنعت تکثیر و پرورش میگو یکی از فعالیت های عمده آبی پروری می باشد که درآمد حاصل از آن در بعضی کشورهای جهان در شمار نخستین درآمدهای ملی محسوب می شود (حکمت شعار و همکاران، ۱۳۸۹). در دهه های گذشته این صنعت تحت تاثیر بیماری های ویروسی و باکتریایی بوده که سبب کاهش سطح تولید گشته و به عنوان اولین چالش های پیش روی این صنعت اعلام شده است (Anderson et al., 2016). این آمار ضرورت توجه بیشتر به بیماری ها و انجام طرح های تحقیقاتی در این زمینه را توجیه می نماید. از سوی دیگر، در پرورش میگو خوراک ۴۰-۷۰ درصد کل هزینه تولید را شامل می شود و بعد از بیماری دومین چالش پیش روی پرورش دهندگان میگو در جهان می باشد (Olmos et al., 2014). در سال های اخیر، جامعه کشاورزی و امروزه مصرف کنندگان علاقه روزافزونی به خوراک فراسودمند نشان داده اند. بازار خوراک فراسودمند به دلیل افزایش ارزش تغذیه ای، ایجاد طعم و مزه بهتر و داشتن فواید بیشتر برای سلامت مصرف کننده رو به رشد می باشند (Roberfroid, 1999). در سال های اخیر نیز استفاده از پروبیوتیک ها در جیره غذایی به عنوان یک روش پیشگیرانه سازگار با محیط زیست در آبی پروری مورد توجه قرار گرفته است (Ochoa-Solano et al., 2006); ضیایی نژاد و همکاران ۱۳۸۴؛ ساجدی راد و همکاران، ۱۳۸۹؛ چوبکار و همکاران، ۱۳۹۷). پروبیوتیک ها به عنوان میکروارگانیسم های زنده ای شناخته می شوند که نقش های مختلفی در سلامت میزبان دارند و در آبیان از جمله میگو سبب جلوگیری از رشد باکتری های بیماری زا، بهبود فرایند تجزیه مواد آلی ناخواسته در آب یا رسوب، بهبود شاخص های رشد و سلامت آبی، بهبود وضعیت تولید آنزیم های گوارشی موثر در جذب می گردند (Verschuere et al., 2000). ارزش غذایی خوراک میگو را می توان با استفاده از اجزا و افزودنی های مجاز افزایش داد و یکی از موارد مورد بحث و توجه پرورش دهندگان میگو، نحوه

استفاده از پروبیوتیک در خوراک میگو می باشد. در این پژوهش خوراک فراسودمند میگو را به دو روش اسپری پروبیوتیک بومی تک سل بر خوراک و مخلوط در پلت، در دوزهای مختلف تهیه و اثر آن بر عملکرد رشد و ضریب تبدیل غذایی پست لارو میگوهای لیتوپنئوس و انامی در تانک مورد سنجش قرار داده شد.

مواد و روش کار

به منظور تهیه جیره غذایی و تغذیه میگوهای جوان سفید غربی از خوراک کنسانتره تجاری ۴۰۳ کارخانه هووراش (ترکیب شیمیایی جیره شامل: پروتئین خام ۳۸ درصد، چربی خام ۹ درصد، فیبر خام ۳ درصد، خاکستر ۱۵۴ درصد و رطوبت ۱۰ درصد) و پروبیوتیک تک سل (ساخت کارخانه تک ژن زیست) حاوی دوز 10^{13} CFU kg⁻¹ باکتری باسیلوس سوبتیلیس آی اس ۰۲ (Bacillus subtilis IS02 (GenBank: JN856456.1) (Mirbakhsh et al., 2013) جداسازی شده از دستگاه گوارش میگوهای سفید غربی پرورش یافته در استان بوشهر و دارای فیلر کربنات کلسیم استفاده شد.

تهیه خوراک فراسودمند حاوی پروبیوتیک بومی تک سل به روش مخلوط در پلت

برای این منظور پودر پروبیوتیک مطابق با دوزهای CFU 10^6 ، 10^7 و 10^8 توزین (Liu et al., 2009; Sadat et al., 2018) و مطابق دستورالعمل کارخانه در آب دریا حل و به مدت ۳۰ دقیقه هوادهی شد. از نشاسته ذرت به عنوان همبند به میزان ۲ درصد وزن خوراک استفاده گردید (حسینی و همکاران، ۱۳۹۵). سپس سوسپانسیون حاصل با غلظت های مشخص بر خوراک کنسانتره پودر شده اسپری شده و همزمان با یک دستگاه همزن برقی پروبیوتیک و نشاسته ذرت در کل خوراک مخلوط گردید تا غلظت نهایی موجود در جیره تهیه شده یکنواخت باشد (Balcazar et al., 2007; Wanka et al., 2013; Mirbakhsh et al., 2013).

کردن محلول نشاسته ذرت بر ۲۰۰ گرم خوراک کنسانتره تجاری آماده گردید. جیره‌های تهیه شده درون ظرف‌های پلاستیکی در فریزر نگهداری شدند.

تغذیه میگوها

تعداد ۵۰۰ قطعه پست لارو میگوی سفید غربی از ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه تهیه و به سالن مواجهه پژوهشکده میگوی کشور انتقال یافت. پس از سازگاری میگوها، پست لاروهای میگو در ۸ تیمار آزمایشی با سه تکرار (۳۰ قطعه $(1/0.6 \pm 0/0.5)$ گرم به میگو در هر تانک) با وزن متوسط هر تانک فایبر گلاس ۳۰۰ لیتری انتقال یافت و خوراک دهی با توجه به میانگین وزنی میگوهای تحت آزمون به میزان ۵ درصد وزن میگو ها به مدت ۴۰ روز مطابق تیمارهای

جدول ۱ انجام شد و در طول دوره دما و شوری آب محل پرورش ثبت گردید.

نهایت از خمیر حاصل با استفاده از دستگاه چرخ گوشت پلت تهیه و هر تیمار به طور جداگانه در آون (دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، ۶ ساعت) قرار داده شد. سپس جیره های غذایی تهیه شده، بسته بندی و در فریزر نگهداری شدند، کلیه مراحل مذکور بدون افزودن پروبیوتیک برای تهیه جیره غذایی شاهد انجام گردید.

تهیه خوراک فراسودمند حاوی پروبیوتیک بومی تک سل به روش اسپری

خوراک کنسانتره تجاری بر روی سطحی صاف پخش و پروبیوتیک در دوزهای 10^6 ، 10^7 و 10^8 CFU kg⁻¹ بر سطح خوراک اسپری شد. نشاسته ذرت نیز که در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده بود، بر خوراک اسپری گردید و با غلتاندن سطح پلت‌ها، با باکتری پوشانده شد (Balcazar et al., 2007; Mirbakhsh et al., 2013;) (Wanka et al., 2018) جیره گروه شاهد نیز با اسپری

جدول ۱: تیمار بندی میگو های تحت مطالعه بر اساس نوع جیره خوراک فراسودمند (TM1، TM2 و TM3: جیره های مخلوط در پلت، TS1، TS2 و TS3: جیره های اسپری روی پلت)

Table 1: Treatments of shrimps under trails base on the functional food diets (TM1, TM2 and TM3: Supplement to the pellet, TS1, TS2 and TS3: spray on pellet)

نام جیره	(CFU kg ⁻¹ دوز)	روش تهیه جیره	تعداد میگو (قطعه)
TM1	10^8	مخلوط در پلت	۳۰
TM2	10^7		۳۰
TM3	10^6		۳۰
CM	جیره فاقد پروبیوتیک	اسپری روی پلت	۳۰
TS1	10^8		۳۰
TS2	10^7		۳۰
TS3	10^6		۳۰
CS	جیره فاقد پروبیوتیک		۳۰

بیومتری و اندازه گیری شاخص های رشد

در پایان دوره، نرخ رشد ویژه (SGR)، نرخ رشد نسبی (RGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و نرخ بازماندگی

(SR) تیمارهای مختلف مطابق فرمول های ذیل محاسبه شد (Velasco et al., 1999; Venkat et al., 2004).

$$\text{نرخ رشد ویژه} = \frac{\ln[(\text{گرم وزن نهایی})] - \ln[(\text{گرم وزن اولیه})]}{\text{طول دوره پرورش}} \times 100$$

$$\text{نرخ رشد نسبی} = \frac{(\text{گرم وزن اولیه}) - (\text{گرم وزن نهایی})}{(\text{گرم وزن اولیه})} \times 100$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{(\text{وزن خشک به گرم خوراک مصرفی})}{(\text{گرم وزن اولیه}) - (\text{گرم وزن نهایی})}$$

$$\text{نرخ بازماندگی} = \frac{(\text{قطعه تعداد میگوها در انتهای دوره آزمایش})}{(\text{قطعه تعداد میگوها در ابتدای دوره آزمایش})} \times 100$$

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده های بدست آمده با استفاده از ورژن ۱۸ نرم افزار PASW و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

در کل اختلاف معنی داری بین نرخ رشد ویژه در تیمارهای مخلوط در پلت و تیمارهای اسپری مشاهده نشد (شکل ۱).

نرخ رشد نسبی

جیره مخلوط در پلت: بیشترین میزان نرخ رشد نسبی در تیمار TM2 ($389/9 \pm 40/05$) مشاهده شد که اختلاف معنی داری ($p < 0/05$) با گروه شاهد داشت.

جیره اسپری بر پلت: بیشترین درصد افزایش وزن در تیمار TS1 برابر ($385/16 \pm 80/51$) وجود داشت. همچنین بین تیمارهای جیره اسپری و گروه شاهد آنها اختلاف معنی داری ($p < 0/05$) وجود داشت (شکل ۲).

ضریب تبدیل غذایی

افزودن باسیلوس پروبیوتیک به خوراک میگوی سفید غربی، تاثیر قابل توجهی در کاهش ضریب تبدیل غذایی تیمارهایی که از پروبیوتیک استفاده کرده بودند، نسبت به تیمارهای شاهد داشت.

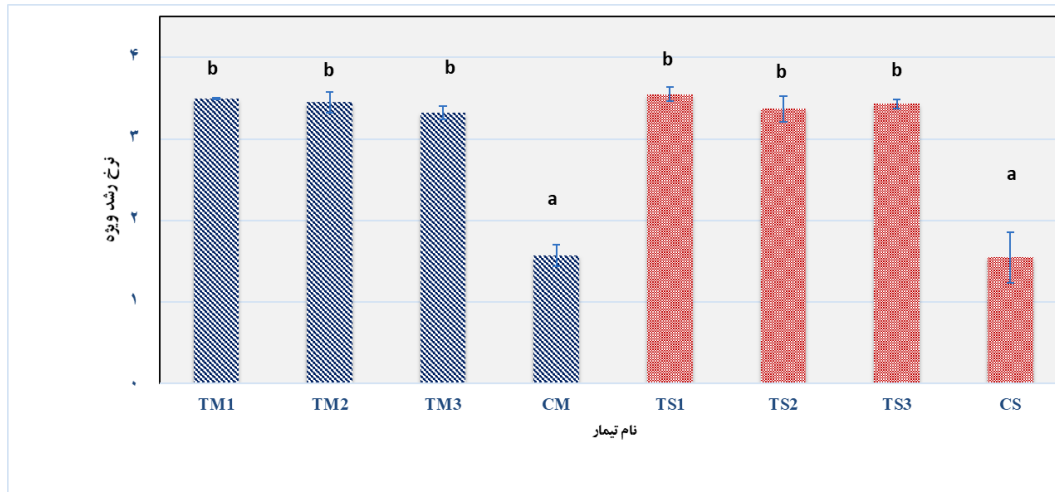
نتایج

مقایسه اثربخشی دو نوع جیره مخلوط و اسپری پروبیوتیک تک سل بر عملکرد رشد

نرخ رشد ویژه

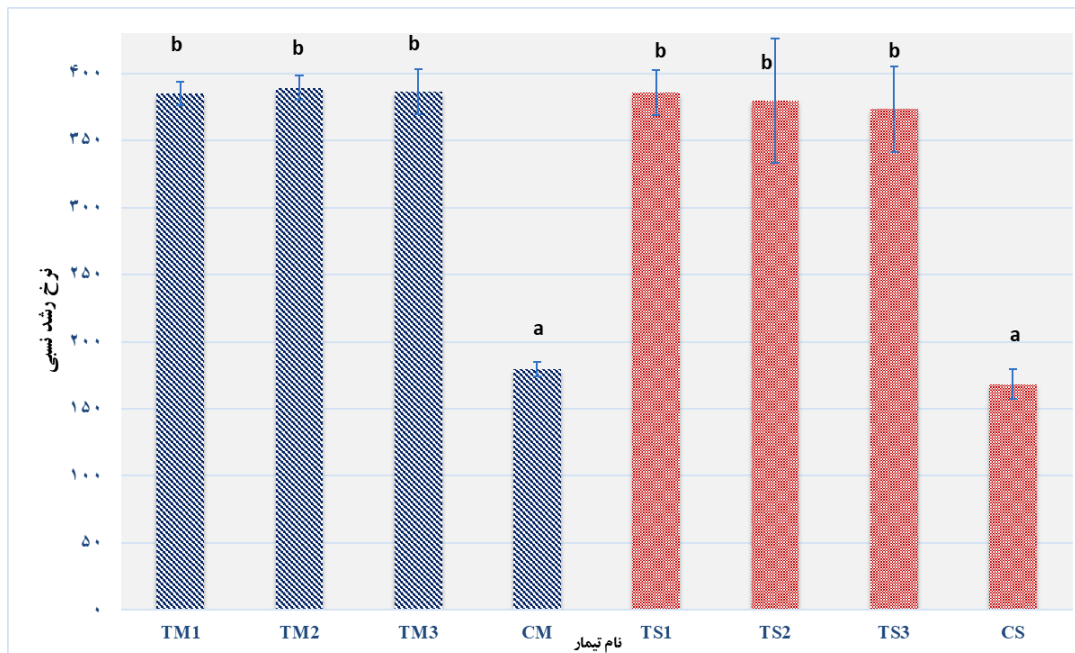
جیره مخلوط در پلت: بیشترین نرخ رشد ویژه در میگوهای تغذیه شده در تیمار TM1 مشاهده شد که برابر با $3/0 \pm 50/01$ بود. این تیمار اختلاف معنی داری ($p < 0/05$) را نسبت به گروه شاهد خود $1/57 \pm 0/13$ نشان داد.

جیره اسپری بر پلت: این پارامتر بیشترین میزان $3/55 \pm 0/09$ را در دوز 10^8 نشان داد که اختلاف معنی داری با گروه شاهد خود ($1/55 \pm 0/31$) داشت.



شکل ۱: مقایسه نرخ رشد ویژه در میگوهای تغذیه شده با جیره های پروبیوتیک مخلوط در پلت (TM1، TM2 و TM3) و جیره های پروبیوتیک اسپری روی پلت (TS1، TS2 و TS3)، حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی داری می باشد ($p < 0.05$)

Figure 1: Comparison of specific growth rates in shrimp fed by probiotic supplemented to the pellet (TM1, TM2 and TM3) and probiotic sprayed on pellet (TS1, TS2 and TS3), different letters indicate a significant difference ($p < 0.05$)

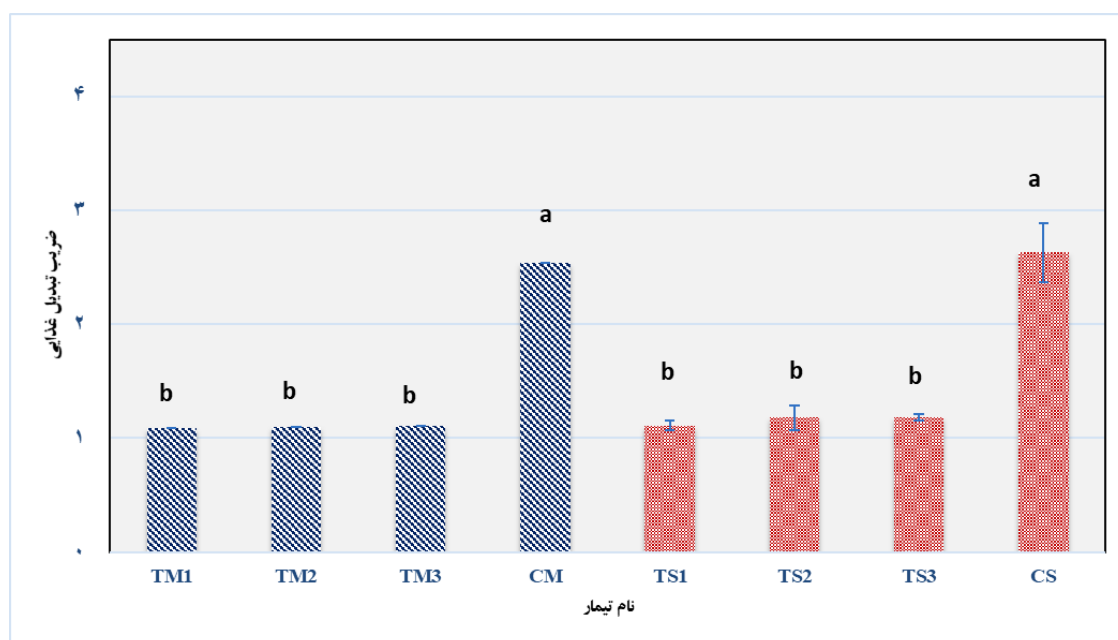


شکل ۲: مقایسه نرخ رشد نسبی در میگوهای تغذیه شده با جیره های حاوی پروبیوتیک مخلوط در پلت (TM1، TM2 و TM3) و جیره های حاوی پروبیوتیک اسپری روی پلت (TS1، TS2 و TS3)، حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی داری می باشد ($p < 0.05$)

Figure 2: Comparison of relative growth rates in shrimp fed by probiotic supplemented to the pellet (TM1, TM2 and TM3) and probiotic sprayed on pellet (TS1, TS2 and TS3), different letters indicate a significant difference ($p < 0.05$)

تیمار TS1 ($1/0 \pm 11/04$) بود که اختلاف معنی داری ($p < 0/05$) با تیمار شاهد داشت. اما بین تیمارهایی که پروبیوتیک به صورت مخلوط در پلت و به صورت اسپری بر جیره استفاده شده بود اختلاف معنی داری بین دوزهای مشابه وجود نداشت ($p > 0/05$) (شکل ۳).

کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار پروبیوتیک مخلوط در پلت با دوز 10^8 (TM1) مشاهده شد که برابر $1/09 \pm 0/00$ بود که از نظر آماری بین این تیمار و تیمار شاهد اختلاف معنی داری ($p < 0/05$) وجود داشت. همچنین در میان تیمارهایی که پروبیوتیک بر جیره اسپری شده بود، کمترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به



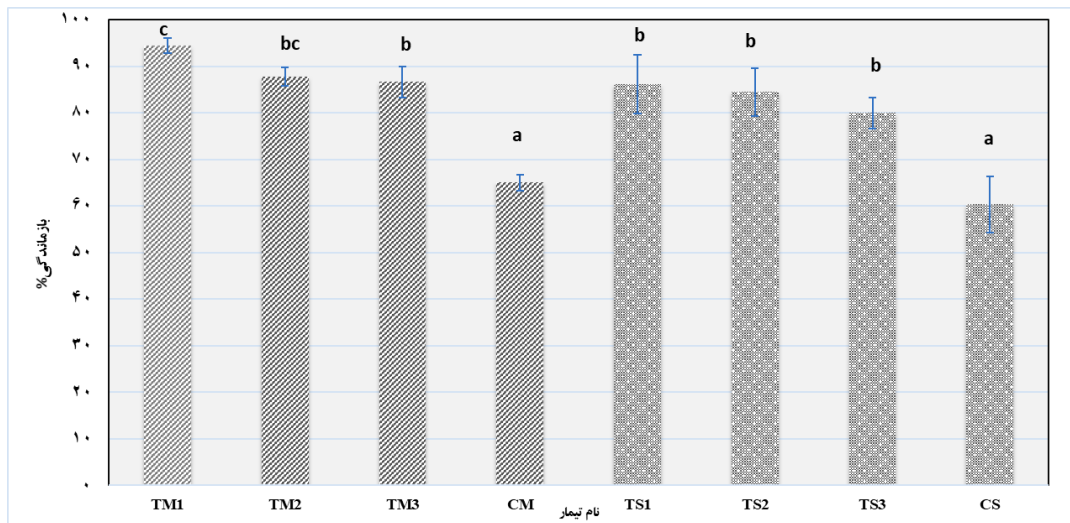
شکل ۳: مقایسه ضریب تبدیل غذایی در میگوهای تغذیه شده با جیره های حاوی پروبیوتیک مخلوط در پلت (TM1، TM2 و TM3) و جیره های حاوی پروبیوتیک اسپری روی پلت (TS1، TS2 و TS3)، حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی داری می باشد ($p < 0.05$)

Figure 3: Comparison of food conversion rates in shrimp fed by probiotic supplemented to the pellet (TM1, TM2 and TM3) and probiotic sprayed on pellet (TS1, TS2 and TS3), different letters indicate a significant difference ($p < 0.05$)

غربی داشته است. اختلاف معنی داری بین تیمارهای جیره مخلوط در پلت و اسپری با گروه های شاهد وجود داشت ($p < 0/05$) (شکل ۴).

درصد بازماندگی

یافته های این تحقیق نشان داد که افزودن پروبیوتیک تاثیر قابل توجهی در افزایش درصد بازماندگی میگوی سفید



شکل ۴: مقایسه درصد بازماندگی در میگوهای تغذیه شده با جیره های حاوی پروبیوتیک مخلوط در پلت (TM1، TM2 و TM3) و جیره های حاوی پروبیوتیک اسپری روی پلت (TS1، TS2 و TS3)، حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی داری می باشد ($p < 0.05$)

Figure 4: Comparison of survival rates in shrimp fed by probiotic supplemented to the pellet (TM1, TM2 and TM3) and probiotic sprayed on pellet (TS1, TS2 and TS3), different letters indicate a significant difference ($p < 0.05$)

بحث و نتیجه گیری

استفاده از پروبیوتیک ها در تولید خوراک فراسودمند آبزیان سبب بهبود شاخص های رشد، تعدیل و ارتقاء سیستم ایمنی و پیشگیری از بروز بیماری ها می شود (Gismondo *et al.*, 1999; Mombelli *et al.*, 2000; Kesarcodi-Watson *et al.*, 2009). در میان گونه های پروبیوتیک باکتریایی، خانواده باسیلاسه به طور گسترده ای در تکثیر و پرورش میگو استفاده می شود و سازمان غذا و دارو آمریکا (USFDA) نیز آن را به عنوان میکروارگانیسم ایمن معرفی نموده است (Ochoa-Solano *et al.*, 2006; Slepecky and Hemphill, 2006; Abriouel *et al.*, 2011). در این پژوهش نرخ رشد ویژه، رشد نسبی و بازماندگی در جیره های خوراک حاوی پروبیوتیک با دوز 10^8 CFU kg⁻¹ (تیمار TM1 و TS1) به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد افزایش داشت ($p < 0.05$). این نتیجه نشان می دهد که کاربرد پروبیوتیک تک سل که حاوی باکتری بومی باسیلوس سوبتیلیس سویه IS02 می باشد، به صورت مخلوط در جیره یا اسپری شده بر پلت می تواند تاثیر قابل توجهی را در عملکرد رشد ایجاد کند. نتایج این پژوهش با مطالعاتی که بر پروبیوتیک های باسیلوسی بر

گونه های مختلف میگو انجام شده است، همخوانی دارد. در مطالعه ای که بر میگوی ببری سیاه (Penaeus monodon) انجام شد، پروبیوتیک باسیلوس سویه S11 به سه فرم (توده باکتری تازه، سوسپانسیون باکتری در نرمال سالین و فرم لیوفلیزه باکتری) به غذای میگو اضافه شد و بر اساس یافته ها، از نظر شاخص های رشد و بازماندگی اختلاف معنی داری بین سه فرم افزودن باکتری به غذای میگو وجود نداشت و پس از مواجهه میگوها با باکتری ویبریو، به دلیل جایگزینی باسیلوس سویه S11 در محیط زیست و دستگاه گوارش میگو به جای گونه های ویبریو و همچنین افزایش سطح ایمنی میگو از بروز ویبریوزیس در میگوهای تغذیه شده با باسیلوس سویه S11 پیشگیری کرد (Rengpipat *et al.*, 1998). در پژوهشی دیگر از دوزهای مختلف باسیلوس سوبتیلیس سویه E20، برای تغذیه میگوهای ببری سیاه استفاده شد که طبق نتایج گزارش شده، بالاترین نرخ بازماندگی و درصد افزایش وزن مربوط به جیره حاوی 10^8 CFU kg⁻¹ باسیلوس سوبتیلیس سویه E20 بود و دوزهای پایین تر (10^6 و 10^7 CFU kg⁻¹) نیز تفاوت معنی داری با گروه شاهد داشتند (Rengpipat *et al.*, 2003). همچنین در

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی استانداری استان بوشهر انجام شده است. از پرسنل آزمایشگاه و معاونت برنامه ریزی و پشتیبانی پژوهشکده میگوی کشور که در طی اجرای پروژه، نهایت همکاری را داشتند سپاسگزاریم.

منابع

- چوبکار، ن.، کاکولکی، ش.، صحرایی، ف.، آقاجانی، ع.ر.، رضایی منش، م. و محمدی، ف.، ۱۳۹۷. بررسی تاثیر غذای غنی شده با پروبیوتیک بر فراسنجه های رشد ماهی پرورشی قزل آلاي رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۷(۵): ۱۱۵-۱۲۴. Doi: 10.22092/ISFJ.2019.118089
- حسینی، ع.، نفیسی بهابادی، م.، ستوده، ا.، همت، ی. و قربانی واقعی، ر.، ۱۳۹۵. شاخص های تغذیه ای، رشد و ترکیب شیمیایی بدن میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با جیره های حاوی همبند های مختلف. مجله علوم و فنون شیلات، ۵ (۴): ۵۷-۷۰.
- حکمت شعار، م.، بنادرخشان، ر.، اصغری، ا.م.، آقا احمدی، ا.، عسگری، ص. و معدنی، و.، ۱۳۸۹. زمینه های سرمایه گذاری آبرزی پروری (پرورش میگو). سازمان شیلات ایران، تهران، ایران.
- ساجدی راد، ا.، زمینی، ع.ع.، ولی پور، ع.ر. و حیات بخش، م.ر.، ۱۳۸۹. اثر افزودن پروبیوتیک Protexin در جیره ی غذایی شاه میگوی آب شیرین (*Astacus leptodactylus*) بر شاخص های رشد و بازماندگی. مجله علمی پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی، ۲ (۴): ۲۹-۳۶.
- ضیایی نژاد، س.، آذری تاکامی، ق.، میروافقی، ع.ر.، حبیبی رضایی، م. و شکوری، م.، ۱۳۸۴. کاربرد باکتری های باسیلوس به عنوان پروبیوتیک برای افزایش پارامترهای رشد و تولید در استخرهای پرورش میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*). مجله منابع طبیعی ایران، ۵۸ (۴): ۸۴۳.

میگوهای سفید غربی تغذیه شده با جیره خوراک حاوی باسیلوس سوبتیلیس سویه E20 (10^8 CFU kg^{-1}) ضریب تبدیل غذایی به طور معنی داری در مقایسه با سایر تیمارها پایین بود (Liu et al., 2010). عبدالهی آرپناهی و همکاران (۱۳۹۳) نیز نشان دادند که استفاده از باسیلوس های پروبیوتیک در جیره میگوی سفید غربی موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی می شود. از سوی دیگر، Zokaeifar و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند افزودن سویه های باسیلوس سوبتیلیس (سویه L10 و J1) با دوزهای 10^5 و 10^8 CFU g^{-1} به خوراک میگو موجب بهبود نرخ رشد ویژه، افزایش وزن، وزن نهایی و بازماندگی میگوهای سفید غربی تغذیه شده با جیره پروبیوتیک شد اما اختلاف معنی داری در ضریب تبدیل غذایی بین هیچیک از تیمارها مشاهده نشد (Zokaeifar et al., 2012). افزودن مستقیم پروبیوتیک تجاری باسیلوس (پروتکسین) به آب مراحل مختلف رشد میگوی سفید هندی منجر به افزایش فعالیت آنزیم ها لیپاز، پروتئاز و آمیلاز در روده گوارشی میگوها شد (Ziaei-Nejad et al., 2005) که این امر بر اساس پژوهش های صورت گرفته بر متابولیت های ثانویه و آنزیم های تولیدی از جنس باسیلوس ها می تواند به دلیل دخالت در عمل هضم بوسیله تولید آنزیم های خارج سلولی (پروتئاز، لیپاز و کربوهیدرولاز)، تولید ویتامین ها و تجزیه ترکیبات غیر قابل هضم و تولید ترکیبات ضد باکتریایی باشد (Abriouel, 2011; Olmos and Paniagua-Michel, 2014). در این مطالعه ضریب تبدیل غذایی در جیره های حاوی پروبیوتیک تک سل به صورت مخلوط در پلت و اسپری بر پلت به طور معنی داری نسبت به گروه های شاهد کاهش داشت و بین دو روش اسپری و مخلوط در پلت اختلاف معنی داری مشاهده نشد. لذا، با در نظر گرفتن سهولت روش اسپری کردن پروبیوتیک بر خوراک میگو، می توان افزودن پروبیوتیک تک سل با دوز 10^7 یا 10^8 kg^{-1} را به صورت اسپری بر پلت به عنوان روشی کارآمد در مزرعه جهت ارتقاء عملکرد رشد و بهبود شاخص های تغذیه ای در پرورش میگوی سفید غربی معرفی کرد.

- Liu, C.H., Chiu, C.S., Ho, P.L. and 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. Doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04284.x.
- Liu, K.F., Chiu, C.H., Shiu, Y.L., Cheng, W. and Liu, C.H., 2010.** Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. *Fish and Shellfish Immunology*, 28(5-6): 837-844. Doi: 10.1016/j.fsi.2010.01.012.
- Mirbakhsh, M., Akhavan sepahi, A., Afsharnasab, M., Khanafari, A. and Razavi, M.R., 2013.** Screening and evaluation of indigenous bacteria from Persian Gulf as a probiotic and biocontrol agent against *Vibrio harveyi* in *Litopenaeus vannamei* post larvae. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(4): 873-886. Doi: 10.22092/ijfs.2018.114326
- Mombelli, B. and Gismondo, M.R., 2000.** The use of probiotics in medicinal practice. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16: 531-536. Doi: 10.1016/s0924-8579(00)00322-8.
- Ochoa-Solano, J. and Olmos-Soto, J., 2006.** The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds. *Food Microbiology*, 23: 519-525. Doi: 10.1016/j.fm.2005.10.004.
- عبدالهی آرپناهی، د.، جعفریان، ح.، سلطانی، م. و قلی پور کنعانی، ح.، ۱۳۹۳.** بکارگیری دو گونه از پروبیوتیک های باسیلوسی بر پاسخ های ایمنی و فلور میکروبی روده پست لارو میگوی پا سفید غربی. *مجله علمی شیلات ایران*، ۲۳ (۴): ۱۰۵-۱۱۸. Doi: 10.22092/ISFJ.2015.103173
- Abriouel, H., Franz, C.M., Ben Omar, N. and Galvez, A., 2011.** Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(1): 201-232. Doi: 10.1111/j.1574-6976.2010.00244.x.
- Anderson, J.L., Valderrama, D. and Jory, D., 2016.** Shrimp production review. Global Aquaculture Alliance, Guangzhou, China.
- Balcazar, J.L., Rojas-Luna, T. and Cunningham, D.P., 2007.** Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following immersion challenge with *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 96(2): 147-150. Doi: 10.1016/j.jip.2007.04.008
- Gismondo, M.R., Drago, L. and Lombardi, A., 1999.** Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 12: 287-292. Doi: 10.1016/s0924-8579(99)00050-3.
- Kesarcodi -Watson, A., Kaspar, H., Lategan, M.J. and Gibson, L., 2009.** Screening for probiotics of Greenshell™ mussel larvae, *Perna canaliculus*, using a larval challenge bioassay. *Aquaculture*, 296: 159-164. Doi:10.1016/j.aquaculture.2009.08.008.

- Olmos, J. and Paniagua-Michel, J., 2014.** *Bacillus subtilis* A Potential Probiotic Bacterium to Formulate Functional Feeds for Aquaculture. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 6(7): 361-365. Doi:10.4172/1948-5948.1000169.
- Olmos, S.J., Paniagua-Michel, J., Lopez, L. and Ochoa, S.L., 2014.** Functional feeds in aquaculture. In: Kim, S.K., (ed.) Handbook of marine biotechnology, Springer, New York, USA. 1800 P.
- Rengpipat, S., Tunyanun, A., Fast, A.W., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P., 2003.** Enhanced growth and resistance to *Vibrio* challenge in pond-reared black tiger shrimp *Penaeus monodon* fed a *Bacillus* probiotic. *Diseases of Aquatic Organisms*, 55(2): 169-73. Doi: 10.3354/dao055169.
- Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, 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.
- Roberfroid, M.B., 1999.** What is beneficial for health? The concept of functional food. *Food and Chemical Toxicology*, 37:1039-104. Doi: 10.1016/s0278-6915(99)00080-0.
- Sadat Hoseini Madani, N., Adorian, T.J., Ghafari Farsani, H. and Hoseinifar, S.H., 2018.** The effects of dietary probiotic Bacilli (*Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*) on growth performance, feed efficiency, body composition and immune parameters of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae. *Aquaculture Research*, 49: 1926-1933. Doi:10.1111/are.13648
- Slepecky, R. and Hemphill, E., 2006.** The genus *Bacillus* Nonmedical. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., Stackebrandt, E., (eds) The Prokaryotes, Vol. 4: Springer, New York, USA. pp. 530-562.
- Velasco, M., Lawrence, A.L. and Castille, F.L., 1999.** Effect of variations in daily feeding frequency and ration size on growth of shrimp, (*Litopenaeus vannamei*), in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture*, 179: 141-148. Doi: 10.1016/S0044-8486(99)00158-1.
- Venkat, H.K., Sahu, N.P. and kamal, K.J., 2004.** Effect of feeding *Lactobacillus*-based probiotic on the gut microflora, growth and survival of postlarva of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture Research*, 35: 501-507. Doi:10.1111/j.1365-2109.2004.01045.x
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P. and Verstraete, W., 2000.** Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64: 655-671.
- Wanka, K.M., Damerau, T., Costas, B., Krueger, A., Schulz, C. and Wuertz, S., 2018.** Isolation and characterization of native probiotics for fish farming. *BMC Microbiology*, 18(1): 119. Doi: 10.1186/s12866-018-1260-2.
- Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A. and Lovett, D.L., 2005.** The effect of

Bacillus spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, 252:516-524.

Doi:10.1016/j.aquaculture.2005.07.021

Zokaeifar, H., Balcázar, J.L., Saad, C.R., Kamarudin, M.S., Sijam, K., Arshad, A. and Nejat, N., 2012. Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 33: 683-689. Doi: 10.1016/j.fsi.2012.05.027.

Comparison of different preparation methods of functional food diets containing native probiotic Takcell® on the growth performance of Western white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) post larvae stage

Mirbakhsh M.^{1*}; Berenji M.²; Mohajeri borazjani J.²; Ghaednia B.¹; Nazzari M.A.³

*maryam.mirbakhsh@gmail.com

1-Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

2-Department of Natural Resources and Fisheries, Bushehr Branch, Islamic Azad University, Bushehr, Iran

3-Shrimp Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bushehr, Iran

Abstract

In recent years, the use of probiotics has been considered as an ecological preventive approach to aquaculture, because of the perilous consumption of antimicrobials for humans and the environment, the use of alternative methods is increasing. In this study, we compared the efficacy of different methods of preparation of functional food containing native probiotic Takcell® on the growth performance of juvenile western white shrimp. For this purpose, post larvae of shrimps were fed in 8 experimental treatments in two ways: probiotic Supplemented and sprayed diets at doses of 10^8 , 10^7 , and 10^6 CFU kg⁻¹ and probiotic-free diets for 40 days in tanks. All probiotic fed- diets showed better performance in relative growth rate, specific growth rate, survival rate and feed conversion ratio compared to control groups ($p < 0.05$). The highest activity of growth indices was observed in spray treatment at a dose of 10^8 CFU kg⁻¹. There was no significant difference with complementary diets ($p > 0.05$). The results of this study showed that functional food containing native probiotic Takcell®, regardless of doses and preparation methods, resulted in improvement of growth and survival indices in western white shrimp, and the dose of 10^8 and 10^7 CFU kg⁻¹ had the highest effect.

Keywords: Functional food, Native probiotics, Western white shrimp, Growth performance, Food diet

*Corresponding author