

## Effect of supplementing single-cell probiotic (*Bacillus subtilis*) on growth performance, survival, and water quality of *Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931 cultured in a biofloc system

Ghorbani R.<sup>1\*</sup>; Hoseini S.A.<sup>1</sup>; Abbasi F.<sup>1</sup>; Sabzeh M.<sup>1</sup>; Kashiri H.<sup>1</sup>; Fazel A.<sup>2</sup>

\*Rasoulghorbani@gmail.com

1-Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Golestan Province, Gorgan, Iran

2- Inland Water Aquatic Resources Research Center, Golestan Province, Gorgan, Iran

Received: August 2025

Accepted: February 2026

Published: May 2026



Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

### Introduction

Aquaculture now represents a primary sector in global food production, having surpassed capture fisheries in aquatic animal production as of 2022 (Abdel-Rahim *et al.*, 2023; Caputo *et al.*, 2023). Among the farmed species, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) has become the dominant species due to its rapid growth, omnivorous diet, high metabolic rate, and adaptability to tropical marine environments (De Silva *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2025; Fadel *et al.*, 2025). Although this species is native to the eastern Pacific, more than 85% of its global aquaculture production now occurs in Asian countries (FAO, 2020; Amiin *et al.*, 2023). Specifically, in Iran, more than 180,000 hectares are suitable for shrimp farming, including 4,000 hectares in Golestan Province. Nevertheless, intensive shrimp farming is confronted with ecological challenges, particularly the accumulation of nutrients and deterioration of water quality due to animal feed (Chaikaew *et al.*, 2019). Maintaining optimal water parameters including temperature, dissolved oxygen, salinity, pH, and conductivity is critical for preventing stress and disease in shrimp culture (Kautsky *et al.*, 2000; Kuncha *et al.*, 2025). Biofloc technology (BFT), which stimulates the formation of beneficial microbial flocs through the addition of carbon sources, has been shown to improve productivity and promote environmental sustainability (Kumar *et al.*, 2014; Mansour *et al.*, 2022; Iber *et al.*, 2025). The incorporation of probiotics into recirculating aquaculture systems further enhances water quality, gut health, and immune function (Menaga *et al.*, 2023; Kaya, 2025). Probiotics exert their effects by competitively excluding pathogens, producing antimicrobial substances, and stimulating host immune responses (Angahar, 2016; Hoseinifar *et al.*, 2018); certain strains also facilitate the reduction of nitrogenous waste (Dalmin *et al.*, 2001; Mang *et al.*, 2024). Moreover, probiotics are recognized as cost-effective, readily isolatable, and ecologically sustainable interventions (Gullian *et al.*, 2004; Vidhya and Thomas, 2023). In larval stages, probiotics enhance digestion through enzyme secretion (Bairagi *et al.*, 2002; Lara-Flores, 2011; Qiu *et al.*, 2023; Vulla *et al.*, 2024). When combined with biofloc technology (BFT), they improve growth performance, feed efficiency, disease resistance, and water quality (Dash *et al.*, 2018; Pratiwi *et al.*, 2020; Qiu *et al.*, 2023). This study aims to evaluate the synergistic effects of

probiotics and BFT on *L. vannamei* with a focus on water quality improvement, enhanced survival, optimized growth, and increased pathogen resistance. The integrated approach offers a sustainable framework for efficient and environmentally friendly shrimp aquaculture.

### Methodology

This study was conducted at the shrimp aquaculture site in Gomishan County, located in northern Golestan Province, Iran. Field experiments were carried out in 12 shrimp ponds to evaluate the effects of biofloc and the probiotic Tak-Cell (containing *Bacillus subtilis*) on the growth performance and survival of Pacific white shrimp (*L. vannamei*). A total of 30 kg of the probiotic was applied over a 120-day period across nine ponds, with an additional 500 g administered during the pond preparation phase. Biofloc was prepared using carbon sources such as sugarcane molasses, rice flour, and wheat flour. These substrates were incubated in warm water (40°C) and subsequently diluted at a specific ratio before being introduced into the culture system. The carbon and nitrogen ratio (C: N) was optimized based on the assumption that 50% of nitrogen from feed is excreted into the aquatic environment. Post-larvae with an initial mean weight of  $0.52 \pm 0.12$  g were stocked at a density of 200,000 individuals per hectare in aerated ponds. Throughout the culture period (June to September), water quality parameters including salinity, temperature, pH, ammonia, nitrate, and phosphate were regularly monitored. Shrimp were fed commercial formulated diets 2–4 times daily at feeding rates ranging from 2.5% to 10% of biomass. The experimental design followed a completely randomized structure with four treatments: (1) biofloc without probiotic (control), and (2–4) biofloc combined with probiotic at concentrations of 300, 400, and 500 g/ha, respectively. Each treatment was replicated three times. Growth parameters including mean body weight, average daily gain, specific growth rate, feed conversion ratio, and survival rate were calculated using standard formulas. Data normality was assessed via the Shapiro–Wilk test. Upon confirmation of normal distribution, one-way ANOVA and LSD post hoc tests were conducted at a 5% significance level using SPSS version 23.

### Result

During the period of shrimp farming in the test ponds, considerable fluctuations in air temperature were observed between the morning and evening hours, occasionally reaching up to 15°C. However, the water temperature, salinity and pH remained relatively stable throughout the sampling period and were consistently within the optimum range for shrimp farming. Statistical analysis revealed no significant differences in survival rates between the different treatments ( $p > 0.05$ ). Nevertheless, the 500 g/ha single-cell probiotic treatment showed the least variation in survival rate, indicating more stable culture conditions. In terms of growth performance, the highest mean final weight was observed in the 300 g/ha of probiotic treatment. Although this difference was not statistically significant compared to the 400 g/ha treatment, it was significantly higher than that of 500 g/ha and control groups. The highest specific growth rate (SGR) was recorded in the 400 g/ha treatment, which was not significantly different from other treatments, including the control. The highest average daily growth rate (ADGR) was also recorded in the 300 g/ha group, but no statistically significant differences were observed between treatments. For live biomass, the 300 g/ha treatment yielded the highest values and showed a statistically significant difference compared to the 500 g/ha group. Feed consumption was highest in the control group and was significantly higher than in the other treatments. The lowest feed conversion ratio (FCR) was found in the 300 g/ha treatment, which differed significantly only from the control group.

## Discussion and conclusion

Probiotics play a crucial role in improving growth performance in aquaculture by optimising metabolic processes and creating favourable ecological conditions (Liu *et al.*, 2009; Todorov *et al.*, 2024; Tao *et al.*, 2025). Their enzymatic activity improves digestion and nutrient uptake, leading to better growth results (Ghosh *et al.*, 2023; Calcagnile *et al.*, 2025). In the present study, water quality parameters such as temperature, salinity, and pH remained within the optimal range, which is consistent with the findings of Naik and Srinivasulu Reddy (2020b) and Van Wyk and Scarpa (1999), who emphasized the importance of a stable environment for shrimp health. Survival rates showed no significant differences between treatments, which is consistent with previous Biofloc studies (Naik and Srinivasulu Reddy, 2020b), although the 500 g/ha probiotic treatment showed greater stability. In particular, the 300 g/ha treatment gave better results for final weight, biomass, and feed conversion ratio (FCR), outperforming the manufacturer-recommended dose. This result contrasts with Llario *et al.* (2020), who reported limited growth benefits from *Bacillus amyloliquefaciens* alone, but supports studies emphasizing the improved efficacy of probiotics when used in combination (Souza *et al.*, 2012; Qiu *et al.*, 2023; Preena *et al.*, 2025). The addition of carbon sources such as molasses and rice bran contributed to improved water quality and plankton density, which is consistent with the results of Naik and Srinivasulu Reddy (2020a), Menaga *et al.* (2023), and Aparna *et al.* (2024). These improvements probably supported the observed growth and feed efficiency. The synergistic effects of probiotics and biofloces reduction of microbial load, immune stimulation and supplementary nutrition; are well documented (Serra *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2024; Marimuthu *et al.*, 2024) and were reflected in the result of the present study, with FCR values around 2 and final weights between 13.21 and 20.80g. Overall, the use of 300 g/ha of single-cell probiotic proved to be more effective than the recommended dose and provided both biological and economic benefits. This supports the view that optimised probiotic dosing in conjunction with carbon supplementation and biofloc management can significantly improve the sustainability and productivity of shrimp aquaculture (Khanjani *et al.*, 2024; Ziaei-Nejad *et al.*, 2006; Megahed *et al.*, 2019; Kaya *et al.*, 2022). Based on the results of this study, it is recommended that future research focus on the synergistic application of multi-strain probiotic formulations in combination with optimized carbon sources. This approach can further improve growth performance, feed efficiency, and environmental stability in intensive shrimp aquaculture systems. In addition, adjusting probiotic dosing based on empirical evidence rather than manufacturer guidelines may improve both biological efficacy and economic sustainability.

## Conflict of interest

The authors declare that there are no known financial conflicts of interest or personal relationships that could have appeared to influence the work presented in this article.

## Acknowledgment

The authors sincerely express their appreciation to all colleagues and experts who provided assistance at various stages of this research. This study was financially supported by Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, under the research project entitled “Improving the growth performance and survival of Pacific white shrimp (*L. vannamei*) through the addition of probiotics and biofloc to pond water” (Project ID: 21-484-02).

## مقاله علمی - پژوهشی:

# تأثیر افزودن پروبیوتیک تک سل (*Bacillus subtilis*) بر شاخص‌های رشد، بقا و کیفیت آب میگوی *Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931 پرورش یافته در سیستم بیوفلاک

رسول قربانی<sup>۱\*</sup>، سیدعباس حسینی<sup>۱</sup>، فاطمه عباسی<sup>۱</sup>، میثم سبزه<sup>۱</sup>، حدیثه کشیری<sup>۱</sup>، عبدالعظیم فاضل<sup>۲</sup>

\*Rasoulghorbani@gmail.com

۱- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، استان گلستان، گرگان، ایران

۲- مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی، استان گلستان، گرگان، ایران

تاریخ چاپ: اردیبهشت ۱۴۰۵

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۴

## چکیده

پرورش میگوی پاشفید غربی (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931) نیازمند راهکارهایی برای حفظ کیفیت آب و بهبود شاخص‌های رشد است. یکی از رویکردهای نوین در این زمینه، استفاده هم‌زمان از فناوری بیوفلاک و مکمل زیستی مانند پروبیوتیک است. پژوهش حاضر، با هدف ارزیابی تأثیر کاربرد بیوفلاک و پروبیوتیک تک‌سل بر کیفیت آب و عملکرد رشد میگوی پاشفید غربی در مزارع پرورش میگو واقع در سایت پرورش میگوی گمیشان، انجام شد. پست لاروهای مرحله ۱۲ (PL<sub>12</sub>) با میانگین وزنی ۰/۵±۰/۵۲ گرم با تراکم ۲۰۰ هزار قطعه در هکتار در مزارع پرورش میگو ذخیره‌سازی شدند. در طول دوره پرورش، شاخص‌های فیزیکیوشیمیایی (شوری، هدایت الکتریکی، دما، pH) به صورت منظم پایش گردید. تغذیه میگوها با استفاده از خوراک تجاری کنسانتره، به میزان ۴-۲ وعده در روز و در محدوده ۱۰-۲/۵ درصد زیست توده کل، از خرداد لغایت شهریور ۱۴۰۲ انجام شد. طرح آزمایشی به صورت کاملاً تصادفی با یک گروه شاهد و سه تیمار آزمایشی، هر کدام با سه تکرار، اجرا گردید: گروه شاهد: (بدون افزودنی)، تیمار ۱: (افزودن بیوفلاک و پروبیوتیک تک‌سل با غلظت ۳۰۰ گرم در هکتار)؛ تیمار ۲: (افزودن بیوفلاک و پروبیوتیک تک‌سل با غلظت ۴۰۰ گرم در هکتار)؛ تیمار ۳: (افزودن بیوفلاک و پروبیوتیک تک‌سل با غلظت ۵۰۰ گرم در هکتار). نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری در درصد بازماندگی بین تیمارها وجود نداشت. با این حال، تیمار حاوی ۳۰۰ گرم پروبیوتیک در هکتار، بالاترین میانگین وزن نهایی، بیشترین نرخ رشد روزانه و کمترین ضریب تبدیل غذایی را نسبت به سایر تیمارها به‌ویژه تیمار شاهد و تیمار ۵۰۰ گرم در هکتار (غلظت پیشنهادی کارخانه سازنده)، نشان داد. بر این اساس، به نظر می‌رسد که استفاده از غلظت ۳۰۰ گرم پروبیوتیک تک‌سل در هکتار، ضمن بهبود عملکرد رشد، از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه‌تر است و می‌تواند به عنوان دوز بهینه در سیستم‌های پرورش میگوی پاشفید غربی، پیشنهاد شود.

**لغات کلیدی:** بیوفلاک، پروبیوتیک تک‌سل، میگوی پاشفید غربی، پرورش میگو، شاخص رشد

\*نویسنده مسئول



Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## مقدمه

آبزی پروری به عنوان یکی از سریع‌ترین بخش‌های در حال رشد تولید مواد غذایی، از ظرفیت بالایی برای پاسخگویی به تقاضای فزاینده جهانی برای غذا برخوردار بوده و در سال ۲۰۲۲ برای نخستین بار از صید طبیعی در تولید جانوران آبزی پیشی گرفته است (Caputo et al., 2023; Abdel-Rahim et al., 2024). میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931)، یکی از گونه‌های بومی سواحل شرقی اقیانوس آرام است که دامنه پراکنش آن از سواحل مکزیک تا شمال کشور پرو امتداد دارد. این گونه در زیست‌بوم‌های دریایی گرمسیری حضور دارد. مناطقی که دمای آب در طول سال به طور پایدار بالاتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد باقی می‌ماند و شرایط زیستی مطلوبی را برای رشد و تکثیر آن فراهم می‌سازد (Huang et al., 2025; Fadel et al., 2025). در میان گونه‌های پرورشی، میگوی پا سفید غربی به دلیل گونه همه‌چیزخوار، دارای متابولیسم بالا، رشد سریع و سازگاری وسیع با شرایط محیطی، به عنوان گونه‌ای غالب در صنعت پرورش میگو شناخته می‌شود (De Silva et al., 2021). در طول دو دهه گذشته، پرورش *L. vannamei* رشد نمایی در سراسر جهان را تجربه کرده و به مهم‌ترین صنعت آبزی پروری تجاری تبدیل شده به طوری که نزدیک به ۸۵٪ تولید میگوی وانامی، طی این سال‌ها مربوط به مناطق آسیایی بوده است و در این مناطق، غیربومی تلقی می‌شود (FAO, 2020; Amiin et al., 2023). مطالعات انجام‌شده در نوار ساحلی جنوب و شمال کشور حاکی از آن است که در سطح کشور بیش از ۱۸۰ هزار هکتار اراضی مستعد پرورش میگو شناسایی و وجود دارد که سهم استان گلستان به عنوان تنها استان شمالی کشور به میزان ۴ هزار هکتار است (Golestan Province Fisheries Directorate, 2011; Salehan et al., 2015).

حفظ پایداری اکولوژیک فعالیت‌های پرورش میگو، یکی از چالش‌های اساسی صنعت آبزی پروری است، زیرا نهادهایی مانند خوراک تجاری و ترکیبات آن به‌ویژه در سیستم‌های پرورش متمرک، به طور قابل توجهی در محیط کشت تجمع می‌یابد و منجر به افزایش بار مواد مغذی و در نهایت کاهش

کیفیت آب می‌گردد (Chaikaew et al., 2019). حفظ کیفیت مطلوب آب برای دستیابی به رشد بهینه و حداکثر نرخ بقاء در پرورش میگو ضروری است. سطح شاخص‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی (دما، اکسیژن محلول، شوری، pH، هدایت الکتریکی) و سایر شاخص‌های مرتبط باید به طور منظم پایش و در محدوده بهینه نگه داشته شوند تا از بروز استرس، کاهش رشد و شیوع بیماری‌ها جلوگیری گردد (Kautsky et al., 2000; Kuncha et al., 2025). استفاده از فناوری بیوفلاک در سیستم‌های پرورش آبزیان، با بهره‌گیری از منابع کربن خارجی موجود در خوراک، موجب افزایش بهره‌وری و پایداری زیست‌محیطی شده است (Kumar et al., 2014; Mansour et al., 2022; Iber et al., 2025). فناوری بیوفلاک به عنوان یک نوآوری مهم در صنعت آبزی پروری معرفی شده است و با استفاده از منابع کربنی خارجی، رشد میکروارگانیسم‌های مفید را در محیط پرورش تحریک می‌کند (Khanjani et al., 2024a). میکروبیوفلاک‌ها قادرند، ترکیبات نیتروژن‌دار محلول را جذب کرده و آنها را به پروتئین میکروبی تبدیل کنند که به عنوان منبع غذایی غنی و قابل‌هضم برای آبزیان عمل می‌کند (El-Sayed, 2021; Khanjani et al., 2024b). استفاده از بیوفلاک علاوه بر کاهش بار مواد مغذی و آلودگی محیط، نیاز به تعویض مکرر آب را نیز کاهش می‌دهد (Zimmermann et al., 2023; Li et al., 2025). این فناوری موجب افزایش پایداری زیست‌محیطی، کاهش هزینه‌های خوراک و ارتقاء سلامت و رشد میگو در سیستم‌های پرورش متمرک شده است (Wang et al., 2025). بنابراین، بیوفلاک در سال‌های اخیر به عنوان رویکردی پایدار و اقتصادی در پرورش میگو و سایر گونه‌های آبزی مورد توجه گسترده قرار گرفته است (McCusker et al., 2023; Liu et al., 2025).

در سیستم‌های آبزی پروری با گردش آب، استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان یک راهکار زیستی مؤثر، منجر به بهبود سلامت و کیفیت محیط پرورش می‌گردد. علاوه بر این، استفاده هم‌زمان از پروبیوتیک‌ها و بیوفلاک‌ها در سیستم‌های پرورش، از طریق بهبود ترکیب میکروبی روده، افزایش ایمنی و کاهش بار بیماری‌زا، پتانسیل رشد و سلامت میگو را به

با هدف بررسی اثرات هم‌افزایی کاربرد پروبیوتیک‌ها و فناوری بیوفلاک، به منظور ارتقاء عملکرد بوم‌شناختی و تولیدی در مزارع پرورش میگوی وانامی طراحی گردید. با توجه به چالش‌های موجود در حفظ کیفیت آب و بهینه‌سازی شاخص‌های رشد در سیستم‌های پرورش متراکم میگو، استفاده هم‌زمان از فناوری بیوفلاک و مکمل زیستی پروبیوتیک تک‌سل، به عنوان رویکردی زیست‌سازگار و اقتصادی، مورد توجه قرار گرفته است. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر این ترکیب بر شاخص‌های فیزیوشیمیایی آب، عملکرد رشد، ضریب تبدیل غذایی و درصد بازماندگی میگوی پا سفید غربی در شرایط مزرعه‌ای طراحی و اجرا شد.

## مواد و روش کار

### منطقه مورد مطالعه

شهرستان گمیشان از سمت جنوب با شهرستان ترکمن، از شمال با جمهوری ترکمنستان، از غرب با دریای خزر و از شرق با شهرستان آق‌قلا هم‌مرز است. موقعیت اجرای طرح پژوهشی در ۱۷ کیلومتری شمال شهرستان گمیشان قرار داشت. مطالعه حاضر، در قالب آزمایش‌های میدانی، در ۱۲ استخر متعلق به مزارع پرورش میگو، واقع در سایت پرورش میگوی گمیشان انجام پذیرفت (شکل ۱).

### تهیه خوراک پروبیوتیک

در پژوهش حاضر، از پروبیوتیک "تک‌سل" تولید شرکت تک‌ژن زیست، حاوی گونه باکتری باسیلوس *Bacillus subtilis* با غلظت  $10^{14} \times 3$  تا ۵، (در مجموع ۳۰ کیلوگرم از این پروبیوتیک طی مدت زمان ۱۲۰ روز به آب مزارع پرورش میگو افزوده گردید (۹ استخر ۱/۱ هکتاری) (Olmos *et al.*, 2020; Mohammed *et al.*, 2025). همچنین در مرحله آماده‌سازی استخرها، مقدار ۵۰۰ گرم پروبیوتیک به اضافه شد.

### تهیه بیوفلاک

در این مطالعه، سیستم بیوفلاک به صورت ثابت و مطابق با رویه اجرایی در سایت پرورش میگوی گمیشان در تمامی

طور قابل توجهی افزایش می‌دهد (Menaga *et al.*, 2023; Kaya, 2025). مطالعات نشان داده‌اند که پروبیوتیک‌ها از طریق رقابت مستقیم با عوامل بیماری‌زا، ترشح ترکیبات ضد میکروبی (باکتریوسین‌ها<sup>۱</sup> و اسیدهای آلی) و تحریک پاسخ ایمنی میزبان، موجب کاهش بروز بیماری‌های عفونی در آبزیان می‌شوند (Angahar, 2016; Hoseinifar *et al.*, 2018). برخی سویه‌های پروبیوتیک با جذب ترکیبات نیتروژن‌دار در آب، نقش مؤثری در بهبود کیفیت آب ایفاء می‌کنند (Dalmin *et al.*, 2001; Mang *et al.*, 2024). یکی از مزایای کلیدی پروبیوتیک‌ها در آبی‌پروری، سهولت ایزولاسیون و کشت آنها از محیط‌های آبی و دستگاه گوارش ماهیان است. این ویژگی، همراه با کاربرد ساده و هزینه پایین، موجب شده است که این محصولات زیستی به عنوان جایگزین‌های پایدار و هم‌سو با اصول بوم‌شناختی و ساختارهای زیست‌محیطی مورد توجه قرار گیرند (Gullian *et al.*, 2004; Vidhya and Thomas, 2023). از این‌رو، استفاده از پروبیوتیک‌ها در صنعت آبی‌پروری با رشد چشمگیر و استقبال گسترده همراه بوده است.

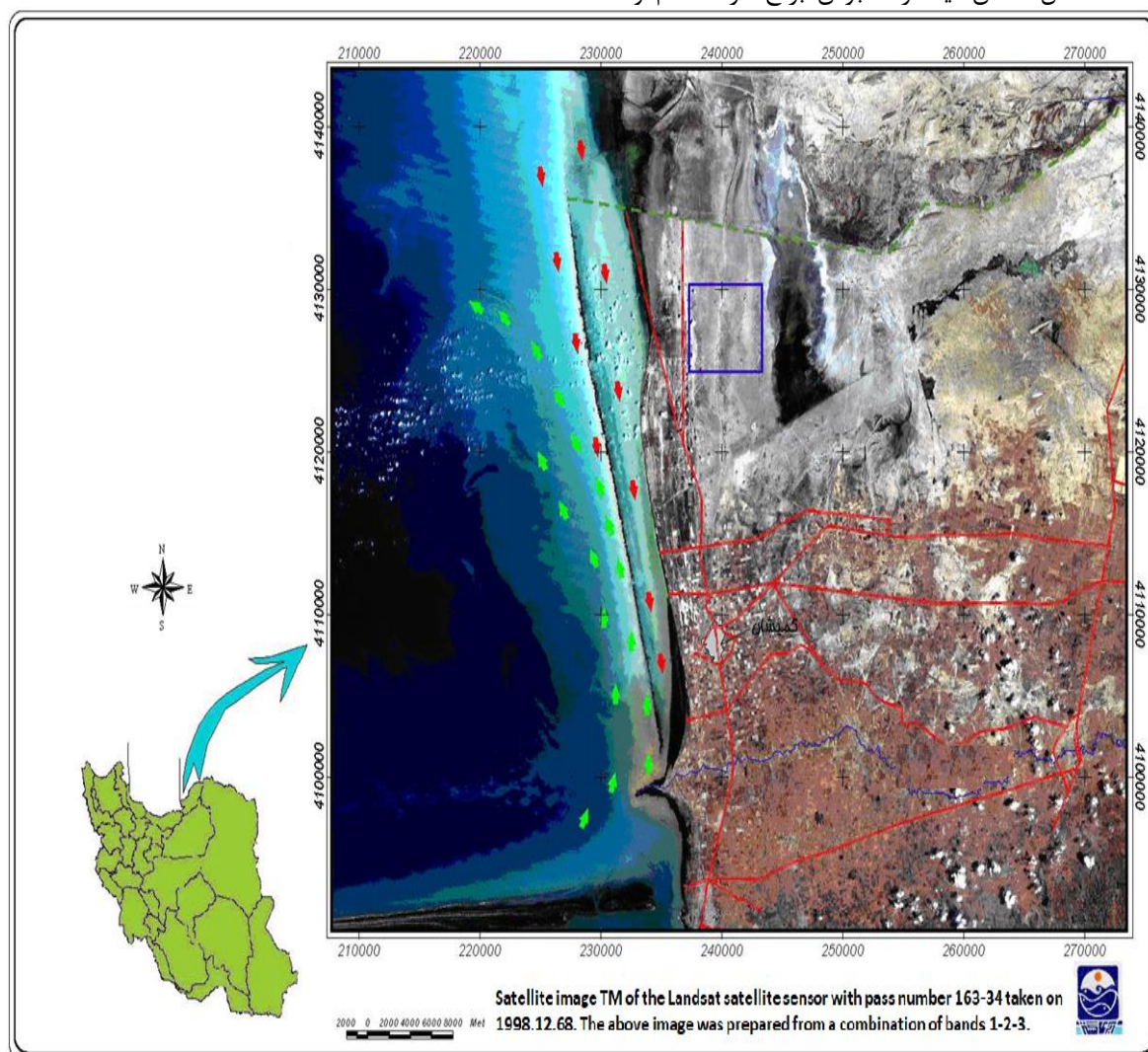
مطالعات متعدد نشان داده‌اند که استفاده از پروبیوتیک‌ها در مراحل لاروی آبزیان، موجب افزایش فعالیت آنزیمی و بهبود عملکرد گوارشی می‌گردد. پروبیوتیک‌ها پس از ورود به دستگاه گوارش میزبان، به سطح مخاطی روده متصل می‌شوند و با بهره‌گیری از کربوهیدرات‌های موجود در محیط روده، اقدام به رشد و ترشح آنزیم‌های خارج سلولی (آمیلاز، پروتئاز و لیپاز)، می‌کنند. این آنزیم‌ها موجب افزایش قابلیت هضم پروتئین، چربی و قندها شده و کارایی تغذیه و رشد در لاروهای آبزیان بهبود می‌یابد و از بروز اختلالات گوارشی جلوگیری می‌شود (Bairagi *et al.*, 2002; Lara-Flores, 2011; Qiu *et al.*, 2023; Vulla *et al.*, 2024). نتایج مطالعات اخیر نشان می‌دهد که افزودن مکمل‌های پروبیوتیک به سیستم‌های بیوفلاک نه تنها موجب بهبود رشد، هضم و متابولیسم آبزیان می‌شود بلکه مقاومت آنها در برابر بیماری‌ها را نیز افزایش می‌دهد و کیفیت آب در سیستم‌های کشت ارتقاء می‌بخشد (Dash *et al.*, 2018; Pratiwi *et al.*, 2020; Qiu *et al.*, 2023).

<sup>1</sup> Bacteriocins



تیمارها اعمال گردید. منابع کربن مورد استفاده در تولید بیوفلاک شامل ملاس نیشکر، سبوس برنج، آرد گندم و

مخمر بودند (Rind *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2025).



شکل ۱: موقعیت سایت کشت میگوی گمیشان (Sabzandish Payesh Consulting Engineers, 2010)

Figure 1: Geographical Location of the Gomishan Shrimp Aquaculture Complex (Sabzandish Payesh Consulting Engineers, 2010)

فرض دفع ۵۰ درصد نیتروژن از خوراک مصرفی میگو به محیط آبی (Panigrahi *et al.*, 2018; Robles-Porchas *et al.*, 2020) و با در نظر گرفتن میزان پروتئین خوراک (۳۵٪)، به صورت عددی برابر با ۱:۱۵ تنظیم گردید. برای دستیابی به این نسبت، مقدار منبع کربن مورد نیاز با استفاده از فرمول پیشنهادی Naik و Srinivasulu Reddy (۲۰۲۰a) محاسبه گردید.

برای هر هکتار، ۳ کیلوگرم ملاس نیشکر، ۵ کیلوگرم آرد گندم، ۳ کیلوگرم سبوس برنج و ۲۵۰ گرم مخمر در ۱۵۰ تا ۲۰۰ لیتر آب مخلوط شده و به مدت ۴-۳۶ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و تحت شرایط تخمیر قرار گرفتند (Li *et al.*, 2023; Iber *et al.*, 2025). سپس محلول حاصل برای استفاده به عنوان محیط کشت هر ۱۵ روز یک بار، به میزان ۵۰-۱۰۰ کیلوگرم در هکتار، به آب استخرها اضافه گردید. نسبت کربن به نیتروژن (C:N) در این مطالعه با

## پرورش میگوی پاشفید غربی

پست لاروهای میگوی پاشفید غربی ( $0.52 \pm 0.12$  گرم) در مزارع آبی پروری مجهز به هوادهی، با تراکم ۲۰۰ هزار قطعه در هکتار ذخیره سازی شدند. در طول دوره پرورش، شاخص های فیزیوشیمیایی شامل شوری، دما، pH با دستگاه مولتی پارامتر پرتابل مدل HQ40D (شرکت Hach، آمریکا) و مقادیر آمونیاک، نیترات و فسفات با دستگاه فتومتر Palintest (انگلستان) و کیت های اختصاصی همان شرکت، طبق دستورالعمل های مربوطه، به طور مداوم (روزانه ساعت ۸ صبح) اندازه گیری و ثبت گردید. تغذیه میگوها با خوراک تجاری کنسانتره فرادانه، به صورت روزانه و در ۴-۲ وعده، به میزان ۱۰-۲/۵ درصد زی توده انجام شد. این فرآیند از خرداد ماه لغایت شهریور ماه ادامه داشت.

## شاخص های رشد و بقاء

شاخص های رشد شامل میانگین وزن بدن، نرخ رشد متوسط، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی براساس روابط و فرمول های استاندارد ذیل، محاسبه گردید (Powell et al., 2020; Rajalakshmi et al., 2025):

$$100 \times \frac{\text{تعداد کل میگوی زنده}}{\text{تعداد کل میگوی ذخیره شده}} = \text{میزان بقاء (\%)} =$$

میانگین وزن ابتدای دوره - میانگین وزن انتهای دوره =  
میانگین افزایش وزن<sup>۱</sup> (g)

$$\frac{\text{غذای خورده شده}}{\text{وزن به دست آمده}} = \text{ضریب تبدیل غذایی}^2$$

$$\frac{\text{وزن ابتدایی} - \text{وزن نهایی}}{\text{تعداد روزهای پرورش}} = \text{میانگین نرخ رشد روزانه}^3$$

$$\frac{\ln \text{وزن نهایی} - \ln \text{وزن اولیه}}{\text{تعداد روزهای پرورش}} = \text{ضریب رشد ویژه}^4$$

## روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها

پژوهش حاضر، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با چهار گروه آزمایشی (شامل یک گروه شاهد و سه تیمار)، هر یک با سه تکرار مستقل، اجرا گردید. هدف اصلی پژوهش بررسی اثر سطوح مختلف پروبیوتیک تکسل در حضور بیوفلاک

بود. در گروه شاهد، تنها بیوفلاک به آب اضافه شد و هیچ گونه پروبیوتیک تکسل مورد استفاده قرار نگرفت. در تیمارهای آزمایشی، بیوفلاک همراه با پروبیوتیک تکسل به آب افزوده شد. سطوح مورد استفاده از پروبیوتیک تکسل شامل ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ گرم در هکتار بودند که به ترتیب به عنوان تیمارهای ۱، ۲ و ۳ در نظر گرفته شدند. افزودنی ها مطابق دستورالعمل های استاندارد و به صورت یکنواخت در استخرها توزیع شدند و تمامی واحدهای آزمایشی تحت شرایط مدیریتی یکسان نگهداری شدند (Najmi et al., 2018; Cheng et al., 2023; Akbary et al., 2024). اجرای سه تکرار برای هر تیمار امکان تحلیل آماری معتبر و مقایسه اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک تکسل را فراهم ساخت.

در پایان دوره آزمایش، شاخص های رشد و بقاء مورد اندازه گیری قرار گرفتند. پیش از تجزیه و تحلیل داده ها، آزمون نرمالیت به استفاده از آزمون شاپیرو - ویلک انجام شد. در صورت تأیید نرمال بودن داده ها، تحلیل واریانس مقایسه میانگین متغیرهای فیزیوشیمیایی، شاخص های رشد و نرخ بقاء در تیمارهای مختلف با استفاده از نرم افزار SPSS23 انجام شد. از آزمون LSD برای بررسی اختلاف میانگین ها در سطح اطمینان ۵ درصد به کار گرفته شد.

## نتایج

## شاخص های فیزیوشیمیایی آب

در طول دوره پرورش در استخرهای مورد بررسی، تغییرات دمای هوا قابل توجه بود و تا ۱۵ درجه سانتی گراد افزایش یافت. با این حال، دامنه تغییرات دمای آب در این دو بازه زمانی (صبح و عصر) محدودتر بود و حداکثر تا حدود ۵ درجه سانتی گراد نوسان داشت. شوری آب در محدوده ppt ۲۲-۱۸ و pH (۷-۸/۳) ثبت گردید. شایان ذکر است، دامنه بهینه برای پرورش میگوی پاشفید غربی، معمولاً شوری ppt ۳۲-۲۸ و pH ۸/۲-۷/۳ در نظر گرفته می شود. بررسی آماری داده ها نشان داد که تغییرات ثبت شده در طول دوره از نظر آماری (سطح اطمینان ۵ درصد) معنی دار نبوده است (جدول ۱).

<sup>1</sup> Weight Gain (WG)<sup>2</sup> FCR (Feed Conversion Ratio)<sup>3</sup> Average Daily Gain Rate (ADGR)<sup>4</sup> Specific Growth Rate (SGR)



جدول ۱: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب استخرهای پرورش میگوی وانامی در سال ۱۴۰۲ در سایت گمیشان

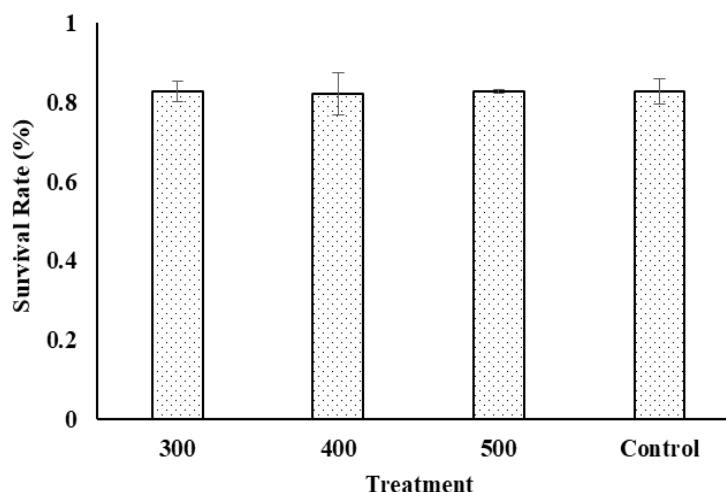
Table 1: Physico- chemical properties of water in vannamei shrimp culture ponds at Gomishan site in 2023

| Month     | Weather Temperature (°C) |            | Water Temperature (°C) |            | pH        |            | Salinity (ppt) |
|-----------|--------------------------|------------|------------------------|------------|-----------|------------|----------------|
|           | Morning                  | Afternoon  | Morning                | Afternoon  | Morning   | Afternoon  |                |
| May       | 14.4 ± 2.9               | 27 ± 3.6   | -                      | 20.6 ± 2.3 | -         | -          | 21.1 ± 1.7     |
| Jun       | 19 ± 2                   | 34.7 ± 2.8 | 26.2 ± 1.7             | 27.8 ± 1.6 | 8.2 ± 0.1 | 8.3 ± 0.1  | 20 ± 0.3       |
| July      | 24.6 ± 2.8               | 37.6 ± 2.3 | 27.5 ± 1               | 29.8 ± 1.6 | 8.1 ± 0.2 | 8.3 ± 0.04 | 20.8 ± 0.4     |
| August    | 25.4 ± 1.4               | 30.9 ± 3.8 | 27.6 ± 1.1             | 28.8 ± 1.6 | 8.1 ± 0.2 | -          | 20 ± 0.0       |
| September | 24.3 ± 1.9               | 35.9 ± 3.6 | 26.7 ± 2               | 28.7 ± 1.8 | 8 ± 0.2   | -          | -              |
| October   | 18.3 ± 1.9               | 35.7 ± 2.1 | 22.4 ± 2.1             | 26.2 ± 1.8 | -         | -          | -              |

### وضعیت رشد در استخرهای پرورشی

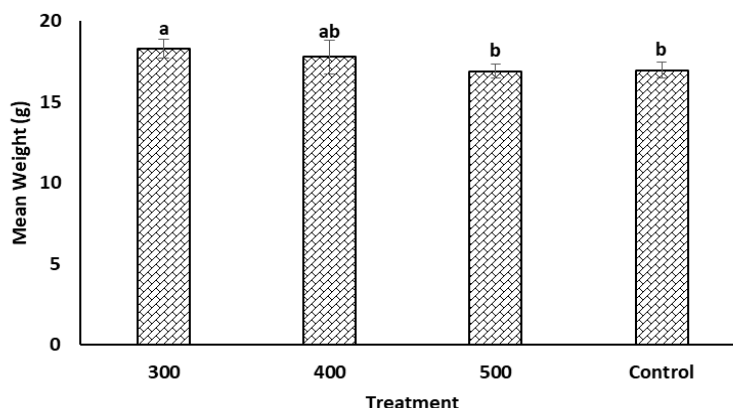
در بررسی وضعیت رشد در استخرهای پرورشی، نتایج حاصل از اندازه‌گیری میانگین وزن نهایی نشان داد که بیشترین میانگین وزن مربوط به تیمار ۳۰۰ گرم پروبیوتیک تکسل در هکتار بود. این تفاوت از نظر آماری با تیمار ۴۰۰ گرم در هکتار اختلاف معنی‌دار نداشت ( $p > 0.05$ )؛ اما به طور معنی‌داری بالاتر از دو تیمار ۵۰۰ گرم در هکتار و شاهد مشاهده گردید (شکل ۳).

در طول دوره پرورش، اختلاف معنی‌داری از نظر درصد بازماندگی بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). با این حال، کمترین میزان نوسان در درصد بازماندگی مربوط به تیمار حاوی ۵۰۰ گرم پروبیوتیک تکسل در هکتار بود که بیانگر پایداری نسبی در شرایط این تیمار طی دوره آزمایش بود (شکل ۲).



شکل ۲: درصد بازماندگی در تیمارهای اضافه کردن پروبیوتیک به استخرهای پرورش میگو در سایت گمیشان

Figure 2: Survival rate (%) in treatments with probiotics addition in shrimp culture ponds at Gomishan site



شکل ۳: وزن انتهایی دوره در تیمارهای اضافه کردن پروبیوتیک به استخرهای پرورش میگو در سایت گمیشان  
Figure 3: Final weight in treatments with probiotics addition in shrimp culture ponds at Gomishan site

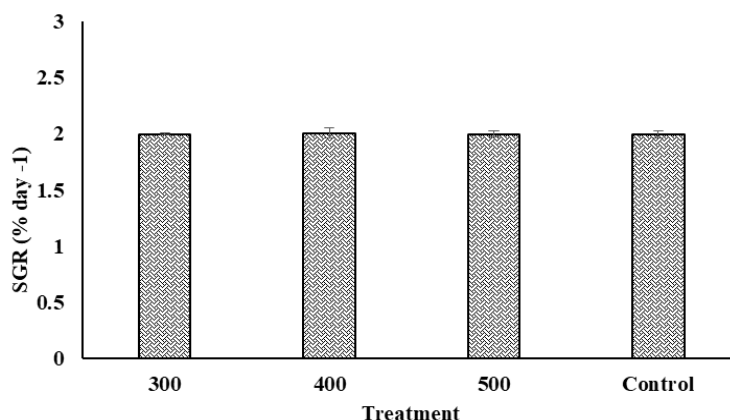
تفاوت معنی دار نشان داد ( $p < 0.05$ ). همچنین، بیشترین میزان غذای مصرفی در تیمار شاهد ثبت شد که به طور معنی داری بالاتر از تیمارهای دیگر بود ( $p < 0.05$ ) (شکل ۶).

در طول دوره پرورش، کمترین ضریب تبدیل غذایی (FCR) مربوط به تیمار حاوی ۳۰۰ گرم پروبیوتیک تکسل در هکتار بود. این تیمار تنها با گروه شاهد اختلاف معنی دار نشان داد ( $p < 0.05$ ) و با تیمارهای دیگر اختلاف معنی دار نداشت ( $p > 0.05$ ) (شکل ۷).

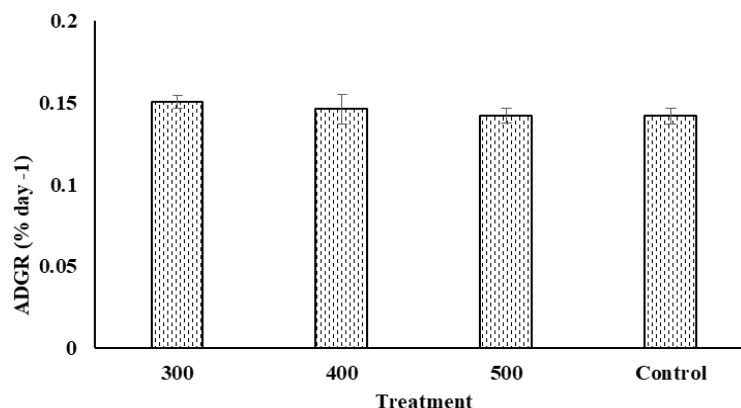
در بررسی میانگین نرخ رشد ویژه میگو، بالاترین میزان در تیمار حاوی ۴۰۰ گرم پروبیوتیک تکسل در هکتار مشاهده گردید. با این حال، با سایر تیمارها از جمله با گروه شاهد اختلاف معنی دار نداشت ( $p > 0.05$ ) (شکل ۴).

همچنین بیشترین نرخ رشد روزانه (ADGR) مربوط به تیمار حاوی ۳۰۰ گرم پروبیوتیک تکسل در هکتار بود، اما با سایر تیمارها از جمله با گروه شاهد اختلاف معنی دار نداشت ( $p > 0.05$ ) (شکل ۵).

در طول دوره پرورش، بیشترین میزان بیوماس زنده مربوط به تیمار حاوی ۳۰۰ گرم پروبیوتیک تکسل در هکتار بود. این تیمار از نظر آماری با تیمار حاوی ۵۰۰ گرم در هکتار

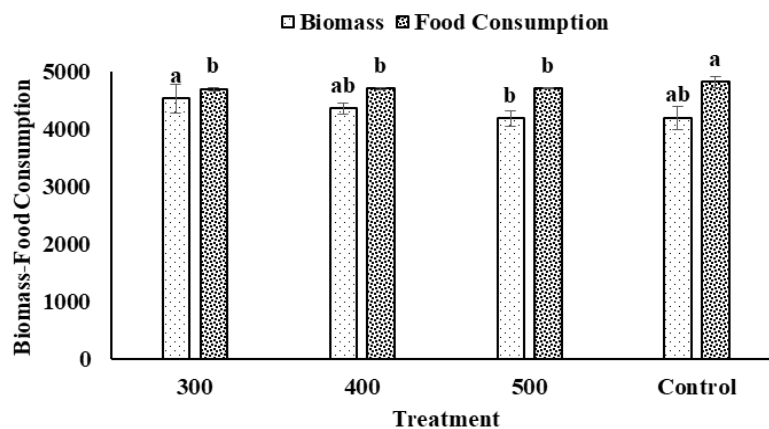


شکل ۴: مقادیر SGR در تیمارهای اضافه کردن پروبیوتیک به استخرهای پرورش میگو در سایت گمیشان  
Figure 4: Specific Growth Rate (SGR) in Treatments with probiotics addition in shrimp culture ponds at Gomishan site



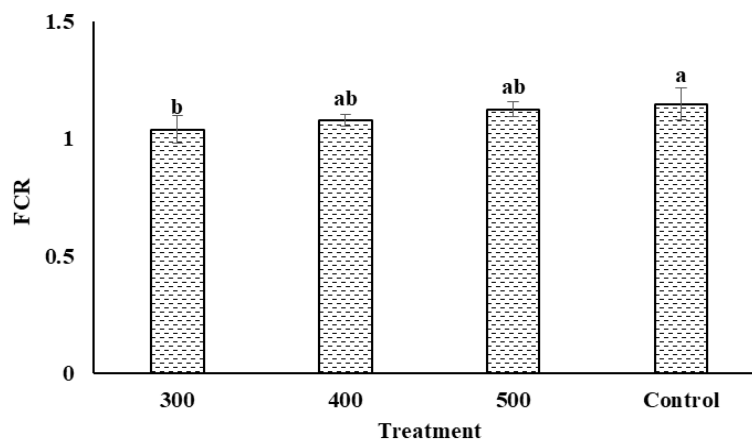
شکل ۵: مقادیر ADGR در تیمارهای اضافه کردن پروبیوتیک به استخرهای پرورش میگو در سایت گمیشان

Figure 5: Average Daily Growth Rate (ADGR) in Treatments with probiotics addition in shrimp culture ponds at Gomishan site



شکل ۶: مقادیر بیوماس و غذای مصرفی در تیمارهای اضافه کردن پروبیوتیک به استخرهای پرورش میگو در سایت گمیشان

Figure 6: Biomass and Feed Consumption in Treatments with probiotics addition in shrimp culture ponds at Gomishan site



شکل ۷: مقادیر FCR در تیمارهای اضافه کردن پروبیوتیک به استخرهای پرورش میگو در سایت گمیشان

Figure 7: Feed Conversion Ratio (FCR) in Treatments with probiotics addition in shrimp culture ponds at Gomishan site

## بحث

نوسانات زیست‌محیطی جلوگیری می‌کنند و در نهایت موجب بهبود عملکرد زیستی گونه‌های پرورشی می‌گردد. در مطالعه Naik و Srinivasulu Reddy (۲۰۲۰b) نرخ بقاء در تمامی گروه‌های آزمایشی پرورش میگوی *L. vannamei* در سیستم بیوفلاک، در محدوده ۹۵-۹۲ درصد گزارش شد که نشان‌دهنده شرایط پایدار محیطی و مدیریت مناسب کیفیت آب در طول دوره آزمایش بود (Naik and Srinivasulu Reddy, 2020b). با این حال، نتایج پژوهشی Llarrio و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد، افزودن پروبیوتیک *Bacillus amyloliquefaciens* تأثیر معنی‌داری بر بهبود شاخص‌های رشد یا نرخ بقاء در مقایسه با گروه شاهد نداشت. اگرچه برخی شاخص‌های ایمنی‌زایی (افزایش گلبول گرانولار)<sup>۱</sup> در همولنف مشاهده شد، اما اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (Llarrio et al., 2020). در مقابل، مطالعه Xie و همکاران (۲۰۱۳) بر سیستم‌های گردش آب نشان داد که استفاده از پروبیوتیک *B. amyloliquefaciens* موجب بهبود نرخ بقاء، افزایش وزن هفتگی و بهبود ضریب تبدیل غذایی (FCR) در گونه‌های پرورشی گردید. با این حال، پژوهشگران بیان می‌دارند که این بهبودها در برخی موارد محدود است و افزودن این پروبیوتیک همیشه منجر به مزایای قابل توجه نمی‌گردد (Xie et al., 2013).

با وجود تفاوت‌هایی در نتایج برخی پژوهش‌ها، مجموعه‌ای از شواهد علمی معتبر نشان می‌دهند که استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌ویژه زمانی که چند سویه باکتری‌ای مفید به صورت ترکیبی در جیره غذایی به کار گرفته شوند، می‌تواند بهبود قابل توجهی در شاخص‌های رشد در آبزیان ایجاد کند (Souza et al., 2012; Qiu et al., 2023; Preena et al., 2025). در همین زمینه، مطالعه Llarrio و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که استفاده از *B. amyloliquefaciens* به‌تنهایی، اثر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد نداشت. با این حال، هنگامی که این سویه با سایر سویه‌های پروبیوتیک مورد استفاده قرار گرفت، افزایش چشمگیری در شاخص‌های رشد مشاهده گردید. این شواهد با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر

پروبیوتیک‌ها با بهینه‌سازی فرآیندهای متابولیک و ایجاد شرایط بوم‌شناختی مطلوب در سیستم‌های پرورشی، نقش مؤثری در ارتقاء عملکرد رشد آبزیان دارند. در این پژوهش، اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک تک‌سل در حضور بیوفلاک بر شاخص‌های رشد و بقاء میگوی پا سفید غربی بررسی شد. نتایج نشان داد که کاربرد پروبیوتیک تک‌سل موجب بهبود معنی‌دار در وزن نهایی، ضریب رشد ویژه گردید و نرخ بقاء نیز در تیمارهای دریافت‌کننده پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که استفاده هدفمند از باکتری‌های پروبیوتیک موجب بهبود شاخص‌های نظیر وزن نهایی، طول بدن و ضریب رشد ویژه در گونه‌های پرورشی می‌گردد (Liu et al., 2009; Todorov et al., 2024; Tao et al., 2025). به‌علاوه، یکی از جنبه‌های مهم آبی‌پروری پایدار، بهره‌گیری از منابع تغذیه‌ای کم‌ارزش به منظور افزایش بهره‌وری غذایی و کاهش هزینه‌های تولید است. در این زمینه، پروبیوتیک‌ها با تولید آنزیم‌های گوارشی، قابلیت هضم ترکیبات سخت هضم را در دستگاه گوارش آبزیان افزایش می‌دهند و با افزایش قابلیت جذب مواد مغذی، موجب بهبود شاخص‌های رشد در گونه‌های پرورشی می‌گردند (Ghosh et al., 2023; Calcagnile et al., 2025).

در مطالعه Naik و Srinivasulu Reddy (۲۰۲۰b) شاخص‌های کلیدی کیفیت آب (شوری، دما و pH) طی دوره ۸۰ روزه تقریباً بدون نوسان قابل توجهی باقی ماند. شوری در سطح ۱۰ ppt اندازه‌گیری و ثبت شد، دمای ستون آب در محدوده ۲۶-۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داشت، اکسیژن محلول ۶/۲-۷/۱ میلی گرم در لیتر نوسان داشت و pH محیط در محدوده ۷/۴-۷/۸ گزارش گردید (Naik and Srinivasulu Reddy, 2020b). Van Wyk و Scarpa (۱۹۹۹) در گزارش جامع خود درباره پرورش میگو، تأکید کردند که حفظ شاخص‌های فیزیکی (دما، اکسیژن محلول، pH، شوری و قلیائیت) در محدوده بهینه، برای سلامت و رشد پایدار میگو ضروری است. این مطالعات نشان می‌دهد که کنترل دقیق این عوامل، از بروز استرس فیزیولوژیک و

<sup>1</sup> Granular Hemocytes

(۲۰۲۰b) میگوهای عاری از بیماری خاص با وزن متوسط ۲/۵۲ گرم در آغاز دوره پرورش، به وزن نهایی ۲۰-۸۰ گرم در انتهای دوره پرورش رسیدند. مقادیر ضریب تبدیل غذایی به دست آمده به طور قابل توجهی پایین بود (حدود ۲) که نشان داد، تمامی جیره های غذایی مورد استفاده برای رشد میگو مناسب و ایده آل بوده اند (Naik and Srinivasulu Reddy, 2020b). مطالعه Ziaei-Nejad و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که استفاده از گونه های باکتری باسیلوس به عنوان پروبیوتیک در آب استخرهای پرورش میگو سفید هندی موجب افزایش معنی دار شاخص های رشد و تولید نهایی شد. به طور کلی، کنجاله بیوفلاک از رشد برخی از سایر گونه های میگو از جمله *P. L. vannamei*, *Penaeus monodon* (P. Fenneropenaeus indicus semisulcatus) حمایت می کند (Megahed et al., 2019; Kaya et al. 2022; Marimuthu et al., 2024).

به طور کلی، افزودن و حفظ نسبت مناسب C:N از طریق ورود منابع کربوهیدراتی به محیط کشت، زمینه را برای القاء پتانسیل رشد میکروبی و بهبود عملکرد سیستم پرورش، فراهم می سازد. استفاده از منابع متنوع کربوهیدرات (ملاس، ساکارز، سیوس گندم، ذرت، نشاسته، دکستروز و سیوس برنج)، در عملیات کشت، نقش مؤثری در ارتقاء بهره وری سیستم دارد. یافته های اخیر نیز این موضوع را تأیید کرده اند. برای مثال، Iber و همکاران (۲۰۲۵) نشان دادند که انتخاب منابع کربنی مناسب و تنظیم بهینه، موجب افزایش تولید بیوفلاک و بهبود کیفیت آب در سیستم های پرورش می شود. Tasleem و همکاران (۲۰۲۴) نیز گزارش کردند که استفاده از منابع کربنی مختلف در سیستم بیوفلاک، علاوه بر ارتقاء رشد و شاخص های زیستی در کپور معمولی، مقاومت غیر اختصاصی و پاسخ ایمنی این گونه را نیز در برابر *Aeromonas hydrophila* بهبود بخشید. این شواهد نشان می دهد که کاربرد ترکیبات کربوهیدراتی در سیستم های پرورش، نه تنها موجب افزایش تولید بیوفلاک و تغذیه غیرمستقیم آبزیان می گردد بلکه با کاهش ترکیبات نیتروژنی، به بهبود کیفیت آب نیز کمک می کند. در نتیجه، استفاده هدفمند از منابع کربن در تنظیم نسبت C:N به

همخوانی دارد و اهمیت رویکرد چندسویه ای را در ارتقاء عملکرد زیستی آبزیان تأیید می کند.

مطالعه Naik و Srinivasulu Reddy (۲۰۲۰a) نشان داد که افزودن پروبیوتیک ها به جیره غذایی میگوی وانامی موجب افزایش معنی دار نرخ رشد روزانه و شاخص های عملکرد زیستی نسبت به گروه شاهد شد. همچنین ترکیب پروبیوتیک ها با منابع کربنی در سیستم بیوفلاک به بهبود کیفیت آب و افزایش تراکم پلانکتونی منجر گردید. این یافته ها با گزارش های Serra و همکاران (۲۰۱۵) و Santos و همکاران (۲۰۲۴) همخوانی دارد که نقش پروبیوتیک ها را در رقابت با باکتری های بیماری زا، تقویت جمعیت باکتری های مفید و ارتقاء کیفیت زیست محیطی استخر نشان دادند. در مقابل، در مطالعه حاضر چنین اثرات مثبتی مشاهده نشد و تفاوت معنی داری میان تیمارها در شاخص های رشد و عملکرد زیستی ثبت نگردید.

افزودن منابع کربنی به سیستم کشت میگو موجب بهبود کارایی مصرف پروتئین و افزایش بهره وری رشد از طریق تحریک تشکیل بیوفلاک و بازیافت نیتروژن می شود (Naik and Srinivasulu Reddy, 2020a). بنابراین، افزودن پروبیوتیک ها و بیوفلاک ها به محیط کشت می تواند پتانسیل رشد را از طریق بهبود کیفیت آب و افزایش دسترسی به پروتئین میکروبی تقویت کند (Menaga et al., 2023; Aparna et al., 2024). این موضوع در مطالعه حاضر نیز از طریق افزایش نرخ بهره وری قابل مشاهده است. به نظر می رسد، هر دو عامل پروبیوتیک ها و بیوفلاک ها-در حفظ کیفیت مطلوب آب نقش کلیدی دارند و برای دستیابی به حداکثر پتانسیل رشد، راهکاری ایده آل محسوب می شوند (Khanjani et al., 2024). پروبیوتیک ها با تعدیل و تثبیت جامعه میکروبی محیط پرورش، کاهش بار میکروبی نامطلوب و بهبود کیفیت زیستی آب، به ارتقاء رشد و عملکرد میگو کمک می کنند. در مقابل، بیوفلاک ها از طریق افزودن منابع کربوهیدراتی و تحریک تشکیل توده های میکروبی مفید، تولید خوراک مکمل با ارزش تغذیه ای بالا را تسهیل می کنند و موجب افزایش رشد و بهبود ضریب تبدیل غذایی می شوند (Naik and Srinivasulu Reddy, 2020a; Marimuthu et al., 2024). در مطالعه Naik و Srinivasulu Reddy

DOI:10.1007/s10499-023-01322-1.

**Akbary P., Mirozehl J., Mirozehl Z. and Aramoon A., 2024.** Investigation of growth performance and digestive enzymes white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed with combined extract of brown macroalgae (MPE) and the single-cell probiotic *Bacillus subtilis*. *Aquaculture Sciences*, 12(2):54-67. (in Persian)

**Amiin, M.K., Lahay, A.F., Putriani, R.B., Reza, M., Putri, S.M.E., Sumon, M.A.A., Jamal, M.T. and Santanumurti, M.B., 2023.** The role of probiotics in vannamei shrimp aquaculture performance—A review. *Veterinary World*, 16(3):638-649. DOI:10.14202/vetworld.2023.638-649.

**Angahar, L.T., 2016.** Applications of probiotics in aquaculture. *American Journal of Current Microbiology*, 4(1):66-79.

**Aparna, Y., Banafsha, S.H. and Reddy, M.S., 2024.** Monoculture and mixed culture of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* and tiger shrimp *Penaeus monodon* in biofloc system: a comparative study. *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research*, 26(3):87-106. DOI:10.9734/AJFAR/2024/v26i3749.

**Bairagi, A., Sarkar Ghosh, K., Sen, S.K. and Ray, A.K., 2002.** Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquaculture International*, (10):109-121. DOI:10.1023/A:1021355406412.

عنوان یک راهبرد مؤثر می‌تواند نقش مهمی در پایداری زیست‌محیطی و بهینه‌سازی عملکرد مزارع پرورش میگو داشته باشد.

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از غلظت پیشنهادی ۳۰۰ گرم در هکتار از پروبیوتیک تک‌سل در استخرهای پرورش میگوی پاشفید غربی، به رغم توصیه شرکت سازنده مبنی بر مصرف ۵۰۰ گرم در هکتار، از کارایی بالاتری برخوردار است. این غلظت نه تنها موجب بهبود شاخص‌های رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی گردید بلکه با کاهش هزینه‌های مربوط به خرید پروبیوتیک، بهره‌وری اقتصادی سیستم پرورش را نیز افزایش داد. با توجه به نتایج حاصله از پژوهش حاضر، می‌توان غلظت مصرفی را به عنوان یک راهکار مؤثر، مقرون به صرفه و زیست‌سازگار برای ارتقاء عملکرد سیستم‌های پرورش میگو، پیشنهاد نمود. امید است که این فناوری در عرصه توسعه پایدار آبی‌پروری، مورد توجه و بهره‌برداری پرورش‌دهندگان قرار گیرد.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی همکاران و کارشناسانی که در مراحل مختلف اجرای این پژوهش یاری‌رسان بودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد. پژوهش حاضر با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و در قالب طرح تحقیقاتی با عنوان "بهبود عملکرد رشد و بقا میگوی وانامی (*L. vannamei*) با افزودن پروبیوتیک و بیوفلاک به آب استخر" (شماره شناسه طرح: ۲۱-۴۸۴-۰۲) انجام گردید.

## منابع

**Abdel-Rahim, M.M., Elhetawy, A.I., Mansour, A.T., Mohamed, R.A., Lotfy, A.M., Sallam, A.E. and Shahin, S.A., 2024.** Effect of long-term dietary supplementation with lavender, *Lavandula angustifolia*, oil on European seabass growth performance, innate immunity, antioxidant status, and organ histomorphometry. *Aquaculture International*, 32(3):3275-3293.



- Calcagnile, M., Quarta, E., Sicuro, A., Pecoraro, L., Schiavone, R., Tredici, S.M., Talà, A., Corallo, A., Verri, T., Stabili, L. and Alifano, P., 2025. Effect of *Bacillus velezensis* MT9 on Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) intestinal microbiota. *Microbial Ecology*, 88(1):37. DOI:10.1007/s00248-025-02531-2.
- Caputo, A., Bondad-Reantaso, M.G., Karunasagar, I., Hao, B., Gaunt, P., Verner-Jeffreys, D., Fridman, S. and Dorado-Garcia, A., 2023. Antimicrobial resistance in aquaculture: A global analysis of literature and national action plans. *Reviews in Aquaculture*, 15(2):568-578. DOI:10.1111/raq.12741.
- Chaikaew, P., Rugkarn, N., Pongpipatwattana, V. and Kanokkantapong, V., 2019. Enhancing ecological-economic efficiency of intensive shrimp farm through in-out nutrient budget and feed conversion ratio. *Sustainable Environment Research*, (29):1-11. DOI:10.1186/s42834-019-0029-0.
- Cheng, A.C., Ballantyne, R., Chiu, S.T. and Liu, C.H., 2023. Microencapsulation of *Bacillus subtilis* E20 probiotic, a promising approach for the enrichment of intestinal microbiome in white shrimp, *Penaeus vannamei*. *Fishes*, 8(5):264. DOI:10.3390/fishes8050264.
- Dalmin, G., Kathiresan, K. and Purushothaman, A., 2001. Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem. *Indian Journal of Experimental Biology*, 39(9):939-942.
- Dash, P., Tandel, R.S., Bhat, R.A.H., Mallik, S., Pandey, N.N., Singh, A.K. and Sarma, D., 2018. The addition of probiotic bacteria to microbial floc: Water quality, growth, non-specific immune response and disease resistance of *Cyprinus carpio* in mid-Himalayan altitude. *Aquaculture*, (495):961-969. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.06.056.
- De Silva, M.L.I., Ranjula, M.A.S., Thanuja, M., Katuwawala, D. and Sumanapala, A.P., 2021. Review on impacts of *Litopenaeus vannamei* on aquaculture. *WildLanka*, 9(1):149-170.
- El-Sayed, A.F.M., 2021. Use of biofloc technology in shrimp aquaculture: a comprehensive review, with emphasis on the last decade. *Reviews in Aquaculture*, 13(1):676-705. DOI:10.1111/raq.12494.
- Fadel, A., Khafage, A., Abdelsalam, M. and Abdel-Rahim, M.M., 2025. Comparative evaluation of three herbal extracts on growth performance, immune response, and resistance against *Vibrio parahaemolyticus* in *Litopenaeus vannamei*. *BMC veterinary research*, 21(1):166. DOI:10.1186/s12917-025-04588-0.
- FAO, 2020. The state of world fisheries and aquaculture opportunities and challenges. 1-244.
- Ghosh, K., Harikrishnan, R., Mukhopadhyay, A. and Ringø, E., 2023. Fungi and actinobacteria: alternative probiotics for sustainable aquaculture. *Fishes*, 8(12):575. DOI:10.3390/fishes8120575.
- Golestan Province Fisheries Directorate., 2011. Performance report on shrimp farming at the Gomishan Aquatic Training and Extension Center. Iran: Golestan Province Fisheries Directorate. 85 P. (in Persian)
- Gullian, M., Thompson, F. and Rodriguez, J.,

- 2004.** Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penneaus vannamei*. *Aquaculture*, (233):1-14. DOI:10.1016/j.aquaculture.2003.09.013.
- Hoseinifar, S.H., Sun, Y.Z., Wang, A. and Zhou, Z., 2018.** Probiotics as means of diseases control in aquaculture, a review of current knowledge and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, (9):2429. DOI:10.3389/fmicb.2018.02429.
- Huang, G., Kong, J., Tian, J., Luan, S., Liu, M., Luo, K., Tan, J., Cao, J., Dai, P., Qiang, G. and Xing, Q., 2025.** Genetic parameter estimation of body weight and Vp AHPND resistance in two strains of *Penaeus vannamei*. *Animals*, 15(9):1266. DOI:10.3390/ani15091266.
- Iber, B.T., Benjamin, I. C., Nor, M. N. M., Abdullah, S.R.S., Shafie, M.S.B., Hidayah, M., Abdullah, M.I. and Kasan, N.A., 2025.** Application of Biofloc technology in shrimp aquaculture: A review on current practices, challenges, and future perspectives. *Journal of Agriculture and Food Research*, 101675 P. DOI:10.1016/j.jafr.2025.101675.
- Kautsky, N., Ronnback, P., Tendenglen, M. and Trocell, M., 2000.** Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. *Aquaculture*, (191):145-161. DOI:10.1016/S0044-8486(00)00424-5.
- Kaya, D., Genc, E., Palić, D., Genc, M.A., Todorović, N., Sevgili, H., Vasiljević, M., Kanyılmaz, M. and Guroy, D., 2022.** Effect of dietary modified zeolite (clinoptilolite) on growth performance of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) in the recirculating aquaculture system. *Aquaculture Research*, 53(4):1284-1292. DOI:10.1111/are.15662.
- Kaya, D., 2025.** Improvement of brown shrimp (*Penaeus aztecus*) culture parameters through dietary enriched synbiotic in a biofloc system. *Aquaculture International*, 33(3):1-23. DOI:10.1007/s10499-025-01909-w.
- Khanjani, M.H., Sharifinia, M., Akhavan-Bahabadi, M. and Emerenciano, M.G.C., 2024a.** Probiotics and phytobiotics as dietary and water supplements in biofloc aquaculture systems. *Aquaculture Nutrition*, 2024(1):3089887. DOI: 10.1155/anu/3089887.
- Khanjani, M.H., Mohammadi, A. and Emerenciano, M.G.C., 2024b.** Water quality in biofloc technology (BFT): an applied review for an evolving aquaculture. *Aquaculture International*, 32(7):9321-9374. DOI:10.1007/s10499-024-01618-w.
- Kumar, S., Shyne Anand, P.S., De, D., Sundaray, J.K., Ananda Raja, R., Biswas, G., Ponniah, A.G., Ghoshal, T.K., Deo, A.D., Panigrahi, A. and Muralidhar, M., 2014.** Effects of carbohydrate supplementation on water quality, microbial dynamics and growth performance of giant tiger prawn (*Penaeus monodon*). *Aquaculture International*, 22(2):901-912. DOI:10.1007/s10499-013-9715-9.
- Kuncha, P., Manoranjini, J., Sirisha, J., Bandeela, S., Penjarla, N.K. and Goud, S.S., 2025.** Advanced aquaculture management: A smart system for optimizing oxygen levels, shrimp health monitoring. *Smart Factories for Industry 5.0 Transformation*, 283-298. DOI:10.1002/9781394200467.ch15.

- Lara-Flores, M., 2011.** The use of probiotic in aquaculture: an overview. *International Research Journal of Microbiology*, 2(12):471-478.
- Li, C., Zhang, X., Chen, Y., Zhang, S., Dai, L., Zhu, W. and Chen, Y., 2023.** Optimized utilization of organic carbon in aquaculture biofloc systems: A review. *Fishes*, 8(9):465. DOI:10.3390/fishes8090465.
- Li, C., Ge, Z., Dai, L. and Chen, Y., 2025.** Integrated application of biofloc technology in aquaculture: A review. *Water*, 17(14):2107. DOI:10.3390/w17142107.
- 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):1031-104. DOI:10.1111/j.1365-2672. 2009. 04284.x.
- Liu, G., Verdegem, M., Ye, Z., Zhao, J., Xiao, J., Liu, X., Liang, Q., Xiang, K. and Zhu, S., 2025.** Advancing aquaculture sustainability: A comprehensive review of biofloc technology trends, innovative research approaches, and future prospects. *Reviews in Aquaculture*, 17(1):e12970. DOI:10.1111/raq.12970.
- Llario F., Romano L.A., Rodilla M., Sebastiá-Frasquet M.T. and Poersch L.H., 2020.** Application of *Bacillus amyloliquefaciens* as probiotic for *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) cultivated in a biofloc system. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(2):904-920. DOI:10.22092/ijfs.2018.117852.
- Mang, Q., Gao, J., Li, Q., Sun, Y., Xu, G. and Xu, P., 2024.** Metagenomic insight into the effect of probiotics on nitrogen cycle in the *Coilia nasus* aquaculture pond water. *Microorganisms*, 12(3):627. DOI:10.3390/microorganisms12030627.
- Mansour, A.T., Ashry, O.A., Ashour, M., Alsaqufi, A.S., Ramadan, K.M. and Sharawy, Z. Z., 2022.** The optimization of dietary protein level and carbon sources on biofloc nutritive values, bacterial abundance, and growth performances of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) juveniles. *Life*, 12(6):888. DOI:10.3390/life12060888.
- Marimuthu, S., Puvaneswari, S. and Lakshmanan, R., 2024.** Effect of biofloc technology enriches the growth of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(7):3860-3890. DOI:10.1007/s12010-023-04729-x.
- McCusker, S., Warberg, M.B., Davies, S.J., Valente, C.D.S., Johnson, M.P., Cooney, R. and Wan, A.H., 2023.** Biofloc technology as part of a sustainable aquaculture system: A review on the status and innovations for its expansion. *Aquaculture, Fish and Fisheries*, 3(4):331-352. DOI:10.1002/aff2.108.
- Megahed, M.E., Fathi, M. and Abderhman, A.M., 2019.** Molecular investigation on the production of the pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) using diets based on biofloc meal. *Journal of Aquaculture and Marine Biology*, 8(6):216-222. DOI:10.15406/jamb.2019.08.00265.
- Menaga, M., Rajasulochana, P., Felix, S., Sudarshan, S., Kapoor, A., Gandla, K., Saleh, M.M., Ibrahim, A.E. and El Deeb, S., 2023.** Evaluation of biofloc-based

- probiotic isolates on growth performance and physiological responses in *Litopenaeus vannamei*. *Water*, 15(16):3010.  
DOI:10.3390/w15163010.
- Mohammed, E.A.H., Ahmed, A.E.M., Kovács, B. and Pál, K., 2025.** The significance of probiotics in aquaculture: a review of research trend and latest scientific findings. *Antibiotics*, 14(3):242.  
DOI:10.3390/antibiotics14030242.
- Naik, M.K. and Srinivasulu Reddy, M., 2020a.** Effect of biofloc system on growth performance in shrimp *Litopenaeus vannamei* under different C:N ratios with sugarcane molasses. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 11(5):243-262.
- Naik, M.K. and Srinivasulu Reddy, M., 2020b.** Performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* with the addition of probiotics and bioflocs: A field study. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 8(3):286-291.
- Najmi, N., Yahyavi, M. and Haghshenas, A., 2018.** Effect of enriched rotifer (*Brachionus plicatilis*) with probiotic lactobacilli on growth, survival and resistance indicators of western white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 17(1):11-20.  
DOI:10.22092/IJFS.2018.115581.
- Olmos, J., Acosta, M., Mendoza, G. and Pitones, V., 2020.** *Bacillus subtilis*, an ideal probiotic bacterium to shrimp and fish aquaculture that increase feed digestibility, prevent microbial diseases, and avoid water pollution. *Archives of Microbiology*, 202(3):427-435.  
DOI:10.1007/s00203-019-01757-2.
- Panigrahi, A., Saranya, C., Sundaram, M., Kannan, S.V., Das, R.R., Kumar, R.S., Rajesh, P. and Otta, S.K., 2018.** Carbon: Nitrogen (C: N) ratio level variation influences microbial community of the system and growth as well as immunity of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in biofloc based culture system. *Fish and shellfish immunology*, (81):329-337.  
DOI:10.1016/j.fsi.2018.07.035.
- Powell, C.D., Tansil, F., France, J. and Bureau, D.P., 2020.** Growth trajectory analysis of Pacific white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Comparison of the specific growth rate, the thermal-unit growth coefficient and its adaptations. *Aquaculture Research*, 51(2):480-489.  
DOI:10.1111/are.14391.
- Pratiwi, R., Hidayat, K.W. and Sumitro, 2020.** Production performance of catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) cultured with added probiotic *Bacillus* sp. on biofloc technology. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 9(3):274-285.  
DOI:10.20473/jafh.v9i3.16280.
- Preena, P.G., Anjana, J.C. and Rejish Kumar, V.J., 2025.** Application of probiotics, prebiotics, and synbiotics in aquaculture. In *Antimicrobial resistance in aquaculture and aquatic environments*, (pp. 277-315). Singapore: Springer Nature Singapore. DOI:10.1007/978-981-97-7320-6\_12.
- Qiu, Z., Xu, Q., Li, S., Zheng, D., Zhang, R., Zhao, J. and Wang, T., 2023.** Effects of probiotics on the water quality, growth performance, immunity, digestion, and intestinal flora of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in the biofloc

- culture system. *Water*, 15(6):1211. DOI:10.3390/w15061211.
- Rajalakshmi, K., Felix, N., Ranjan, A., Arumugam, U., Nazir, M.I. and Sathishkumar, G., 2025.** Effects of diets formulated with different combinations of novel feed ingredients on growth performance, apparent digestibility, digestive enzymes and gene expression activities of Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture International*, 33(2):120. DOI:10.1007/s10499-024-01803-x.
- Rind, K.H., Habib, S.S., Ujan, J.A., Fazio, F., Naz, S., Batool, A.I., Ullah, M., Attaullah, S., Khayyam, K. and Khan, K., 2023.** The effects of different carbon sources on water quality, growth performance, hematology, immune, and antioxidant status in cultured Nile Tilapia with biofloc technology. *Fishes*, 8(10):512. DOI:10.3390/fishes8100512.
- Robles-Porchas, G.R., Gollas-Galván, T., Martínez-Porchas, M., Martínez-Cordova, L.R., Miranda-Baeza, A. and Vargas-Albores, F., 2020.** The nitrification process for nitrogen removal in biofloc system aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 12(4):2228-2249. DOI:10.1111/raq.12431.
- Sabzandish Payesh Consulting Engineers (SAP), 2010.** Environmental impact assessment studies of vannamei shrimp farming in Gomishan Aquaculture Complex. 238 P. (in Persian)
- Salehan, A., Ghorbani, R., Hosseini, S. A., Yelghi, S., Salehi, H. and Amouei-Khuzani, E., 2015.** Growth trend of *Litopenaeus vannamei* and its relationship with physicochemical water factors in Gomishan ponds, Golestan Province. *Journal of Aquaculture Development*, 9(3):39-49. (in Persian)
- Santos, S.M., Wasielesky Jr, W., Braga, Í., Zuñiga, R., Rosas, V.T., Christ-Ribeiro, A. and Fôes, G.K., 2024.** Use of different stocking densities of *Litopenaeus vannamei* juveniles using "synbiotics": effects on water quality, microorganisms, bioflocs composition and zootechnical performance. *Aquaculture International*, 32(5):6133-6151. DOI:10.1007/s10499-024-01459-7.
- Serra, F.P., Gaona, C.A., Furtado, P.S., Poersch, L.H. and Wasielesky Jr, W., 2015.** Use of different carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, 23(6):1325-1339. DOI:10.1007/s10499-015-9887-6.
- Souza, D.M.D., Martins, G.B., Piedras, S.R.N., Pouey, J.L.O.F., Robaldo, R.B. and Leite, F.P.L., 2012.** Probiotic actions of *Bacillus cereus* var. toyoi and *Saccharomyces boulardii* in silver catfish (*Rhamdia quelen*) larvae culture. *Revista Brasileira de Zootecnia*, (41):815-819. DOI:10.1590/S1516-35982012000300048.
- Tao, L.T., Wei, D.M., Niu, B., Lu, H., Xiong, J., Sun, W.W. and Shan, X.F., 2025.** *Bacillus subtilis* probiotic enhances ornamental fish survival through ammonia detoxification. *Aquaculture International*, 33(2):153. DOI:10.1007/s10499-025-01826-y.
- Tasleem, S., Alotaibi, B. S., Masud, S., Habib, S.S., Acar, Ü., Gualandi, S.G., Ullah, M.,**

- Khan, K., Fazio, F. and Khayyam, K., 2024.** Bioflocsystem with different carbon sources improved growth, hematology, nanospecific immunity, and resistivity against the *Aeromonas hydrophila* in Common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Research*, 2024(1): 11. DOI: 10.1155/2024/7652354.
- Todorov, S.D., Carneiro, K.O., Lipilkina, T.A., Do, H.K., Miotto, M., De Dea Lindner, J. and Chikindas, M.L., 2024.** Beneficial microorganisms for the health-promoting in oyster aquaculture: realistic alternatives. *Aquaculture International*, 32(7):10085-10107. DOI:10.1007/s10499-024-01651-9.
- Van Wyk, P. and Scarpa, J., 1999.** Water quality requirements and management. *Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems*, (4520):141-161.
- Vidhya Hindu, S. and Thomas, J., 2023.** Isolation of probiotic bacteria from gut of the aquatic animals. *In Aquaculture Microbiology*, New York, NY: Springer US. pp 99-103. DOI:10.1007/978-1-0716-3032-7\_14.
- Vulla, K.E., Mmanda, F.P., Nyangoko, B.P. and Makule, E.E., 2024.** Unlocking potential benefits on applications of probiotics in Inland aquaculture industry: a review. *Aquaculture, Fish and Fisheries*, 4(6):e70027. DOI:10.1002/aff2.70027.
- Wang, Y., Chen, Z., Chang, Z., Zhang, S., Meng, G. and Li, J., 2025.** Comparison of economic and ecological benefits between factory water exchange model and biofloc model based on meta-analysis. *Aquaculture*, (597):741907. DOI:10.1016/j.aquaculture.2024.741907.
- Xie, F., Zhu, T., Zhang, F., Zhou, K., Zhao, Y. and Li, Z., 2013.** Using *Bacillus amyloliquefaciens* for remediation of aquaculture water. *SpringerPlus*, 2(1):119. DOI:10.1186/2193-1801-2-119.
- Zhang, H., Cao, X., Wu, X., Yu, Y., Zhang, Y., Yang, L. and Zhang, Y., 2025.** Pilot-scale investigation of an advanced biofloc technology for treating Pacific white shrimp effluent: Performance and insight mechanisms. *Aquaculture*, (595):741552. DOI:10.1016/j.aquaculture.2024.741552.
- Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.R. and Shakouri, M., 2006.** The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, 252(2):516-524. DOI:10.1016/j.aquaculture.2005.07.021.
- Zimmermann, S., Kiessling, A. and Zhang, J., 2023.** The future of intensive tilapia production and the circular bioeconomy without effluents: biofloc technology, recirculation aquaculture systems, bio-RAS, partitioned aquaculture systems and integrated multitrophic aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, (15):22-31. DOI:10.1111/raq.12744.