شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱
صفحات ۳۴۲-۳۲۹

ورود سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*) و لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) به صورت مجزا در آب مخازن پرورشی و تاثیر آنها بر شاخص‌های لاروی و فاکتورهای کیفیت آب در میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*)

یاسین دستار[۱]، کامران رضایی توابع[۲*]، غلامرضا رفیعی[۳]، زهره ابراهیمی[۴]

۱.فارغ التحصیل کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۲.دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران (نویسنده مسئول).
۳.استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۴.کارشناس ارشد پژوهشی، ادارهٔ کل شیلات استان لرستان.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹ /۱۱/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۰۵

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثرات سطوح مختلف دو پروبیوتیک *Bacillus subtilis* و*Lactobacillus plantarum* در یک سازگان نیمه بسته بر شاخص‌های کیفی لارو و شرایط کیفی آب مخازن پرورش میگوی بزرگ آب‌شیرین (*Macrbrachium rosenbergii*) صورت گرفت. برای انجام تحقیق، مجموع تعداد ۲۴۰۰۰ لارو تازه تفریخ شدهٔ میگوی بزرگ آب‌شیرین با تراکم ۴۰ لارو در هر لیتر برای مدت یک ماه در مرکز تکثیر قصر شیرین تحت تیمار پروبیوتیکی قرار گرفتند. این آزمایش در مخازن ۲۵ لیتری با چهار تیمار؛ تیمار اول شاهد (بدون پروبیوتیک)، تیمار دوم ($۱۰^{۶}$cfu/g)، تیمار سوم ($۱۰^{۷}$cfu/g) و تیمار چهارم ($۱۰^{۸}$cfu/g) با سه تکرار برای هر کدام از پروبیوتیک‌ها بصورت مجزا طراحی گردید. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت پروبیوتیک *Bacillus subtilis* تا میزان $۱۰^{۷}$ باکتری در هر گرم، فاکتورهای DO، ORP، TDS، LSI و LCI روند افزایش معنی‌داری را نشان دادند (p<۰/۰۵). اما در غلظت‌های بالاتر این روند کاهش پیدا کرد. همچنین نتایج نشان داد که تراکم باکتری *B. subtilis* می‌تواند بعنوان عامل محدود کننده باشد و در غلظت‌های بالاتر از $۱۰^{۷}$ نتایج منفی بر فاکتورهای رشد لاروی و کیفیت آب دارد. برای پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* افزایش تعداد باکتری در تیمارها، فاکتورهای کیفیت لارو و کیفیت آب به طور معنی‌داری روند افزایشی نشان دادند و در تیمار $۱۰^{۸}$ بهترین عملکرد پروبیوتیک *L. plantarum* مشاهده شد که همراه با بهبود معنی‌داری در فاکتورهای کیفیت لارو و کیفیت آب بود(p<۰/۰۵). بطور کلی، بر اساس نتایج به دست آمده، تنظیم غلظت $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ باکتری به ترتیب برای پروبیوتیک‌های *B. subtilis* و *L. plantarum* در مخازن پرورشی میگوی بزرگ آب شیرین تاثیر مثبتب بر شاخص های رشد و کیفیت آب خواهد داشت و این مقادیر در مراکز تکثیر این میگو توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی : میگوی بزرگ آب‌شیرین، پروبیوتیک، دوره لاروی، کیفیت لارو، کیفیت آب

* نویسنده مسئول: کامران رضایی توابع
Email: krtavabe@ut.ac.ir

Journal of Fisheries
Vol. 75, No. 3, Autumn 2022
pp. 329-342

Entrance of different levels of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum* probiotics separately in shrimp tank and their effects on larvae quality, growth index of *Macrobrachioum rosenbergii* and water quality

Yasin Dastar[1], Kamran Rezaei Tavabe[2*], Gholamreza Rafiee[3], Zohreh Ebrahimi[4]

1. M.Sc. Student, Department of Fisheries Sciences, Natural Resources Faculty, University of Tehran, Karaj, Iran.
2. Associate Professor, Department of Fisheries Sciences, Natural Resources Faculty, University of Tehran, Karaj, Iran.
3.Professor, Department of Fisheries Sciences, Natural Resources Faculty, University of Tehran, Karaj, Iran.
4. Research Expert, Lorestan Province Fisheries Administration. Iran.

Received: 23-Jan-2020 **Accepted: 25-Apr-2021**

Abstract
This study examined the possibility of improving the quality of *Macrbrachium rosenbergii* larvae and water quality using different levels of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum* probiotics separately in semi-enclosed shrimp culture system. For the research conduction, 24000 newly hatched larvae of the giant freshwater shrimp obtained from the Ghasre-shirin hatchery center and were stocked in the experimental tanks by 40 larvae/liter density for one month. This experiment was designed in 25 liter tanks with four treatments; the first treatment (control without probiotic), the second treatment (10^6cfu/g), the third treatment (10^7cfu/g) and the fourth treatment (10^8cfu/g) in triplicates (for each of probiotics were designed separately). The results showed that with increasing the concentration of *Bacillus subtilis* probiotic up to 10^7 bacteria per gram, the parameters including DO, ORP, TDS, LSI and LCI have significantly an increase trend and at higher concentrations these parameters are reduced. It also showed that the bacterial density of *Bacillus subtilis* can be represented as a limiting factor and in higher concentration of 10^7 has negative results on larval growth and water quality. In *L. plantarum* probiotic treatment, increasing the number of bacteria, affected larvae quality and water quality, In the treatment of 10^8, the best probiotic performance of *L. plantarum* was recorded. In general, according to the results, the concentrations of 10^7 and 10^8 for *B. subtilis* and *L. plantarum* probiotics are respectively recommended in the hatchery centers of the giant freshwater shrimp.

Keywords: Giant freshwater prawn, Probiotic, Larval stage, Water quality, Larvae quality.

Corresponding author: Kamran Rezaei Tavabe Email: krtavabe@ut.ac.ir

۱. مقدمه

میگـوی بـزرگ آب‌شـیرین[1]از جـنس مـاکروبراکیوم[2] و خـانواده پالئومونیـده[3]اسـت (New, 2002). میگـوی بـزرگ آب‌شیرین با توجه به رشد سریع، قابلیت تکثیر در مراکـز تکثیـر مصنوعی، قابلیت پـرورش در سیسـتم‌هـای مختلـف پرورشـی، بازارپسندی مطلوب و سازگاری در شرایط مختلف محیطـی بـه عنوان یک گونه ارزشمند در تکثیر و پرورش آبزیان مطرح شده است (FAO, 2011).

چرخه زندگی میگوی بزرگ آب‌شیرین دارای چهـار مرحلـه مشخص تخم، لارو، پست‌لارو و بالغ است (New, 2002).

امروزه سیستم پرورش نیمه‌متراکم پرورش میگوی آب‌شیرین به سمت پرورش متراکم و پرورش در مخازن سیمانی تغییر کرده است و در نتیجه نیاز به استفاده از فناوری‌های پیشرفته‌تـر ماننـد استفاده از پروبیوتیک‌ها جهت مدیریت کیفیـت آب و رشـد بهتـر میگوها بیشـتر احسـاس می‌شـود (Yao *et al*., 2014). جیـره طبیعی پست لاروهای میگوهای آب‌شـیرین شـامل حشـرات و لارو آن‌هـا، جلبـک‌هـا، حبوبـات، بـذرها، میـوه‌هـا، نرمتنـان و سخت‌پوستان کوچک، گوشـت مـاهی و سـایر حیوانـات اسـت (New, 2002). میگوی بزرگ آب شیرین در صورتی کـه غـذا به لاروهای تازه تفریخ شـده نرسـد بـه شـدت همـه چیزخـوار می‌شوند (Ling, 1969).

سازمان بهداشت جهانی (WHO) پروبیوتیک‌ها را به عنـوان "میکروارگانیسم‌های زنده" تعریف می‌کند کـه وقتـی در مقـادیر کافی استفاده می‌شود، بر سلامتی میزبان تأثیر مفیدی مـی‌گـذارد (WHO, 2002). در آبزی‌پروری پروبیوتیک‌ها به منظور کنتـرل بیماری‌ها و جایگزینی برای ترکیبات ضدمیکروبی مـورد اسـتفاده قرار می‌گیرند. مکانیسم عملکرد پروبیوتیک‌ها به گونه ایست کـه به صورت مستقیم و غیر مستقیم بر آبزیان تاثیر مـی‌گذارنـد کـه شامل دفع رقابتی پاتوژن‌هاست (Ghashghaei and Layegh, 2004). پروبیوتیک‌ها و محصولات مشتق‌شده از پروبیوتیـک در روده توسط سلول‌های اپی‌تلیال و زیر مخاطی شـناخته می‌شـوند (Guarner and Malagelada, 2003). کاربرد پروبیوتیک‌ها در آبزیان برای حفاظت تخم و لارو ماهی‌ها، در تفریخگاه‌های میگو، در مزارع پرورش میگو، در زمینه ماهیان زینتـی و آکواریـوم‌هـا و غیره می‌باشد (Talebi *et al*., 2010). در حال حاضر گرایش به استفاده از پروبیوتیک‌هـا بـه عنـوان اسـتراتژی جـایگزین بـرای داروهای آنتی‌بیوتیـک در مقابـل بیمـاری‌هـا و کنتـرل آن‌هـا در آبزی‌پـروری رو بـه افـزایش اسـت (Manuchehri, 2014). پروبیوتیک‌ها شامل باکتری‌ها، مخمرها، باکتریوفاژها و جلبک‌های تـک سـلولی هسـتند (Dass *et al*, 2007). باکتری‌هـای پروبیوتیک، پوشش باکتریایی دستگاه گوارش را بـه سـمت یـک ترکیب باکتریایی مفید سوق می‌دهند (Vine *et al*., 2004).

گونه‌های باسیلوس از مرسوم ترین پروبیوتیـک‌هـای مـورد استفاده در صنعت آبزی‌پروری هسـتند(Irainto *et al*, 2002). برخـی از باسـیلوس‌هـا در حالـت اسـتفاده در آب نیـز تـاثیرات مشابهی همچـون اسـتفاده در غـذا داشـتند (Wang, 2019). اغلب باسیلوس‌ها که به عنوان افزودنی به آب افزوده می‌شـوند کیفیت آب را بهبود می‌بخشد. جـنس باسـیلوس دارای خـواص نیتریفیکاسـیون و نیتروژنزدایـی اسـت (Yao *et al*., 2014). اعضای جنس باسیلوس میله‌ای شکل، هوازی، با توانایی تولیـد اندوسپور هستند که ویژگی مهمی برای کاربرد پروبیوتیـک نیـز می‌باشد (Fritze and Claus, 1995).

لاکتوباسیلوس پلانتاروم یک باکتری گرم مثبت، بـی‌هـوازی اختیاری، بدون تحرک و فاقـد توانـایی اسـپور سـازی مـی‌باشـد. پلانتاروم میله‌ای شکل با انتهای گرد می‌باشد که بصورت منفـرد، جفـت یـا زنجیـر کوتـاه رخ مـی‌دهـد (Fox *et al*., 2002). *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* یک باکتری اسید لاکتیک اسـت کـه در محیط حضور دارد و یـا در تخمیرهـای کنتـرل شـده (فرمـانتور) بدست می‌آیـد (Fox *et al*., 2011). *لاکتوباسـیلوس پلانتـاروم* استعداد پروبیوتیکی بالایی در بهبود رشد و فلـور باکتریـایی روده داشـته و بعـد از آزمایش‌هـای فـارمی گزینـه خـوبی بـه‌عنوان پروبیوتیک ماهی کپور اسـت(Alishahi et al., 2018). اثـرات مفید سلامتی یک پروبیوتیک را نمی توان برای گونـه‌های دیگـر پروبیوتیک در نظر گرفت. همین امر در مورد عوارض جانبی نـادر مربوط به پروبیوتیک نیز صادق اسـت. (Larsen *et al*., 2006). هدف از این پژوهش لزوم یافتن غلظت‌هایی از پروبیوتیـک‌هـای *باسیلوس سوبتیلیس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* است که می‌توانند شـاخص‌های کیفیـت لارو میگـوی بـزرگ آب‌شـیرین از جملـه وضعیت لارو، مرحله لاروی، زمان گذر از مرحله لاروی به پسـت لاروی، افزایش وزن و روند تلفات و همچنین پارامترهـای کیفـی آب شامل اکسیژن محلول، کل ذرات محلول و... را بهبود بخشد.

[1] *Macrobrachium rosenbergii*
[2] Macrobrachium
[3] Palaemonidae

۲. مواد و روش

مولدین مورد نیاز این تحقیق در بهار سال ۱۳۹۹ از مرکز تکثیر و پرورش میگوی بزرگ آب شیرین قصر شیرین در استان کرمانشاه وابسته به سازمان جهاد کشاورزی تهیه گردیدند و مراحل تخم‌ریزی، تهیه لارو و دوره یک ماهه تیماربندی آزمایش در سالن تکثیر همان مرکز و با هماهنگی شرکت آبزی اکسیر کوثر صورت گرفت. پروبیوتیک‌های مورد نیاز این پژوهش با توجه به مرور منابع و مشاوره بخش فنی شرکت تامین کننده در غلظت‌های 10^6، 10^7 و 10^8 بصورت تک سوش با کد تایید *باسیلوس سوبتیلیس*: KT222152.1 و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*: KT222172.1 در سایت جهانی NCBI از شرکت دانش بنیان زیست درمان ماهان تهیه گردیدند. در محیط آزمایشگاه شرکت زیست درمان ماهان *باسیلوس سوبتیلیس و لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به ترتیب در محیط کشت‌های TSA آگار و MRS آگار کشت داده شد و به غلظت‌های مورد نیاز رسانده شدند. برای شمارش تعداد کلونی‌های کشت داده شده از روش کلونی کانت استفاده شد. در مخازن نگهداری مولدین، نسبت مولدین نر به ماده ۱ به ۳ قرار داده شد. در طول دوره آزمایش به مدت چهار هفته میگوها در مواجه با سطوح مختلف *پروبیوتیک‌های باسیلوس سوبتیلیس و لاکتو باسیلوس پلانتاروم* قرار گرفتند، شاخص های دما، شوری و دوره نوری به ترتیب برابر ۲±۲۸ درجه سانتی‌گراد، ۰±۱۲/۲ واحد در هزار (ppt) و ۲۴ ساعت نگه داری شد.

۲.۱. آماده‌سازی مخازن و اجرای تحقیق

هر واحد آزمایش یک مخزن با حجم ۲۵ لیتر بود که لاروها با تراکم ۴۰ لارو در هر لیتر در آن قرار گرفتند. آزمایش شامل ۴ تیمار پروبیوتیک با ۳ تکرار در سطوح شاهد (تیمار اول)، 10^6 (تیمار دوم)، 10^7 (تیمار سوم) و 10^8 (تیمار چهارم) برای هر یک از پروبیوتیک‌ها طراحی و اجرا گردید. در شروع آزمایش پروبیوتیک‌ها با غلظت‌های مشخص شده به مخازن اضافه گردید و پس از آن دو بار در هفته تعویض آب به میزان ۵۰ درصد صورت گرفت. چون این کار مقداری از پروبیوتیک از آب مخزن را نیز خارج می‌کند، اصلاح غلظت نیز صورت پذیرفت تا در تمام دوره زمانی آزمایش واحدهای آزمایش غلظت ثابتی داشته باشند. همچنین از هر مخزن بصورت تصادفی تعدادی لارو نمونه برداری و برای برداشت داده‌های کیفیت لارو درون محلول فرمالین ۵ درصد نگهداری شدند.

مهم‌ترین خصوصیات مولدین در جدول ۱ ذکر شده است.

جدول ۱- ویژگی‌های تولیدمثلی مولدین

شاخص	انحراف معیار ± میانگین
وزن مولدین ماده (گرم)	۳±۴۴
بقاء مولدین ماده (٪)	۹۵
فاصلهٔ بین دو تخم ریزی (روز)	۳±۲۷
فاصله بین دو پوست اندازی (روز)	۲±۲۳

پس از پایان دوره تیماربندی، از هر واحد آزمایشی بصورت کاملا تصادفی نمونه برداری شد. نتایج تجزیه داده‌ها در ادامه آورده شده است.

۲.۲. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب

دمای محیط سالن تکثیر ثابت نگه داشته شد تا از تبادل و اتلاف دما جلوگیری شود. آب شور ۱۲ppt از مخازن ذخیره آب به ظرفیت ۲۰۰۰ لیتر استفاده شد که حاصل رقیق سازی آب شور دریا با آب شیرین بود. شرایط دوره نوری هم با توجه به نورگرایی مثبت لاروها بصورت ۲۴ روشنایی تنظیم شد. این کار به دلیل رفتار نوری مثبت لاروهای میگوی بزرگ آب شیرین بود تا از ته‌نشینی لاروها جلوگیری بعمل آید.

۲.۳. تغذیه لاروها

غذادهی در دو نوبت صبح و عصر با ناپلی آرتمیا فرانسیسکانا[1]

[1] *Artemia franciscana*

صورت گرفت. تراکم ناپلی آرتمیا از روز دوم تا دهم در هر وعده ۱۲ ناپلی به ازای هر میلی لیتر آب مخزن و روز ۱۱ تا ۲۰ تراکم هشت ناپلی در هر وعده و از روز ۲۰ تا انتهای دوره لاروی پس از آن تا پایان دوره این مقدار به پنج ناپلی در هر میلی لیتر کاهش یافت. ناپلی آرتمیا از تفریخ سیست آرتمیا در زوک‌های ۷۰ لیتری و طی ۲۴ ساعت هوادهی مداوم عمل آوری شدند.

۲.۴. تعیین کیفیت لارو

از هر مخزن بصورت کاملا تصادفی تعدادی لارو نمونه برداری و برای برداشت داده‌های کیفیت لارو درون فرمالین ۵ درصد نگهداری شدند.

۲.۴.۱. شاخص مرحله لاروی[1](LSI)

این شاخص بیانگر مرحله لاروی می‌باشد که برای هر یک از نمونه‌های گرفته شده از مخازن تیمار ها در آزمایشگاه و زیر لوپ و میکروسکوپ مشخص می‌گردد. مراحل بالاتر این شاخص بیانگر سرعت رشد بالاتر لارو میگوی بزرگ آب شیرین است و نشان دهنده تاثیر مثبت تیمار پروبیوتیک با غلظت مشخص است. در این تحقیق محاسبه شاخص مرحله لارو براساس دستورالعمل (Kwon *et al.*, 1969) بصورت ذیل انجام شد:

$$LSI = \Sigma Si / N$$

Si: مرحله لاروی (i= از ۱ تا ۱۱) N: تعداد لاروهای آزمایش شده

۲.۴.۲. شاخص وضعیت لاروی[2](LCI)

این شاخص بر اساس نمره‌دهی به فاکتورهای کیفیت لارو از جمله وضعیت روستروم، وضعیت رنگدانه‌ها، وضعیت قوس شکمی، شکل دم و ... تعیین می‌گردد. در این تحقیق نمونه‌های برداشت شده از هر تیمار پروبیوتیکی برای بررسی و مشاهده‌ی فاکتورهای بالا زیر لوپ و میکروسکوپ قرار گرفتند و میزان توسعه در هر یک از فاکتورها برای نمونه‌ها مشخص و یادداشت گردید. بدین صورت که به هر ویژگی لارو از صفر تا ۱۰ نمره‌دهی می‌گردد، اگر آن ویژگی را نداشته باشد بصورت سیستمی از معادله خارج می‌گردد. و هر صفت به اندازه نمره‌ای که دریافت می‌کند در کیفیت کلی لارو تاثیر خود را می‌گذارد (Tayamen & Brown. 1999).

$$LCI = \Sigma P^*(10\ N)^{-1}$$

N: تعداد لاروهای آزمایش شده P: نمره‌ی ثبت شده برای هر لارو

۲.۴.۳. Ts90-Ts10

این شاخص برای هر کدام از تیمارها با واحد ساعت اندازه‌گیری گردید. بدین صورت که اختلاف زمانی که ۱۰درصد از لاروها به پست‌لارو تبدیل شده اند تا زمانی که ۹۰درصد از لاروها وارد مرحله پست‌لاروی گردیده اند محاسبه می‌شود. این شاخص در واقع بیانگر سرعت زمانی عبور از مرحله لاروی به پست‌لاروی است که بعد از گذر از آن پست‌لاروها می‌توانند وارد آب‌های شیرین شوند.

۲.۵. اندازه‌گیری شاخص های کیفیت آب

۲.۵.۱. اکسیژن محلول (DO)

غلظت اکسیژن محلول سه بار در روز به فاصله هشت ساعت توسط دستگاه مولتی متر (HANNA AZ 8651) در طول دوره آزمایش اندازه گیری گردید.

۲.۵.۲. اسیدیته (pH)

میزان اسیدی یا قلیاییت آب مخازن پرورشی سه بار در روز به فاصله هشت ساعت توسط دستگاه مولتی متر (HANNA AZ 8651) در طول آزمایش اندازه گیری گردید.

۲.۵.۳. هدایت الکتریکی (EC)

هدایت الکتریکی سه بار در روز توسط دستگاه مولتی‌متر (HANNA HI 9811-5) در طول آزمایش اندازه گیری گردید.

۲.۵.۴. اکسیداسیون – احیا (ORP)

این شاخص بیانگر شرایط اکسیداسیون و احیا منابع آبی است و در دامنه ۱۰۰۰- تا ۱۰۰۰+ تغییر می‌کند. این سنجه بصورت روزانه و سه بار در روز توسط دستگاه مولتی‌متر (HANNA HI 9811-5) در طول آزمایش اندازه گیری گردید.

۲.۵.۵. کل ذرات محلول (TDS)

کل ذرات محلول نیز توسط دستگاه (HANNA HI 9811-5) بصورت دوره‌ای اندازه‌گیری شدند.

[1] Larval stage Index
[2] Larval Condition Index

۲.۶. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

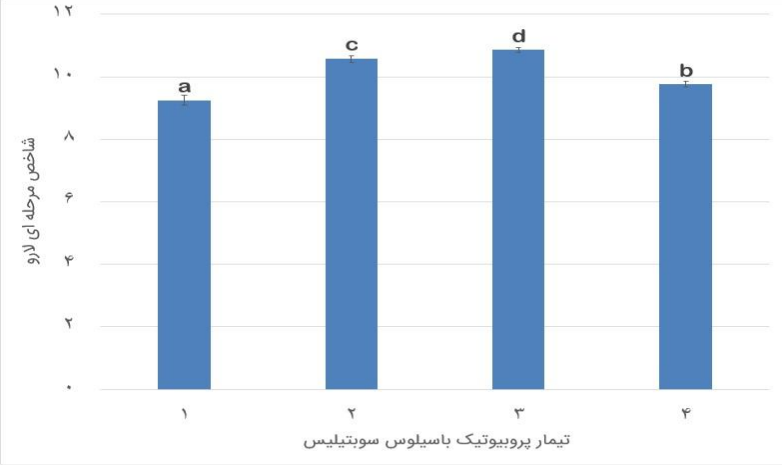
داده های حاصل از این آزمایش جهت تجزیه و تحلیل آماری و طراحی نمودارها در نرم افزار Excel 2013 ثبت گردید. سپس نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از تجزیه واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) از طریق نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ استفاده شد.

۳. نتایج

۳.۱. فاکتورهای کیفیت لارو

۳.۱.۱. شاخص مرحله لارو (LSI)

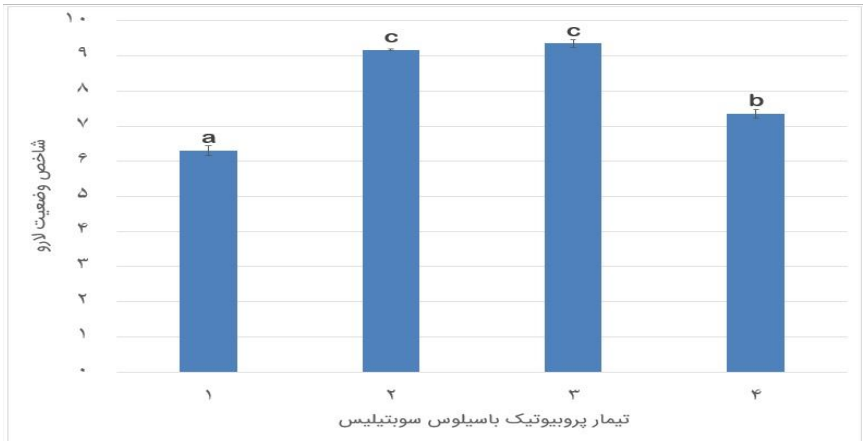
شاخص مرحله لارو (LSI) در تیمار سوم دارای بیشترین افزایش معنی‌دار در سطح (p<۰/۰۵) نسبت به تیمار شاهد بود. تیمارهای دوم و چهارم نیز به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار دارند (p<۰/۰۵) (شکل ۱).



شکل ۱- نمودار تغییرات (میانگین± sd) در شاخص LSI (21dph) لارو میگوی بزرگ آب شیرین تحت تیمار باسیلوس سوبتیلیس. حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.

۳.۱.۱.۲. شاخص وضعیت لاروی (LCI)

همانطور که در نمودار شکل ۳ ملاحظه می‌شود تیمارهای سوم و دوم به ترتیب بیشترین افزایش معنی‌دار در سطح (p<۰/۰۵) را برای سنجه LCI ثبت نموده‌اند. تیمار چهارم نیز افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد. اما این تاثیر کمتر از دو تیمار برتر می‌باشد (p<۰/۰۵) (شکل ۲).

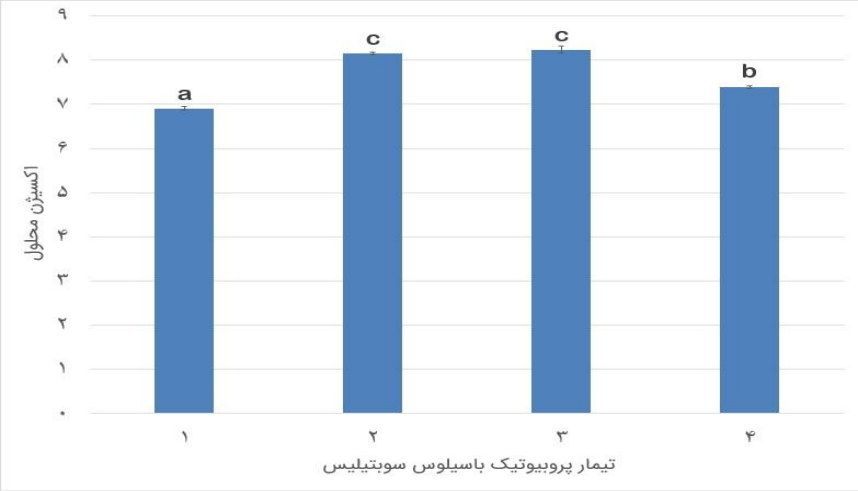


شکل ۲ - نمودار تغییرات (میانگین± sd) در شاخص LCI (21dph) لارو میگوی بزرگ آب شیرین تحت تیمار باسیلوس سوبتیلیس. حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.

۳.۱.۲. شاخص‌های کیفیت آب

۳.۱.۲.۱. اکسیژن محلول (DO)

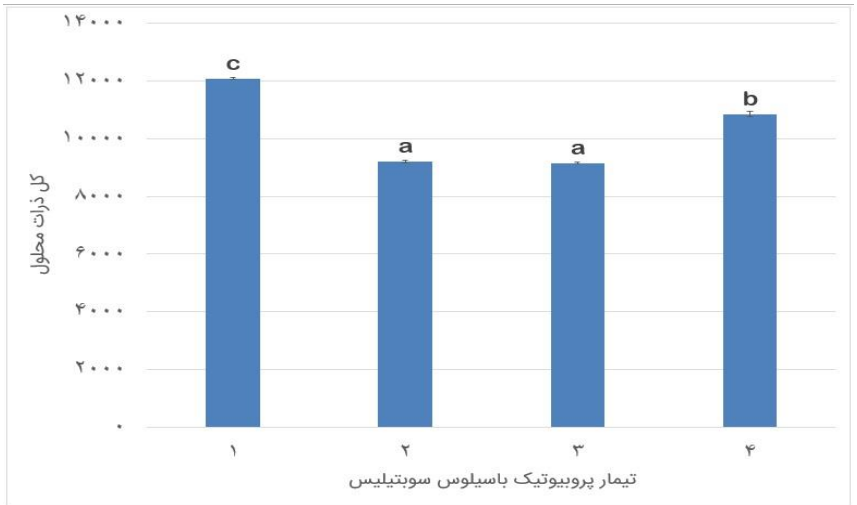
تیمارهای سوم و دوم به ترتیب بیشترین افـزایش معنـی‌دار در سطح (p<۰/۰۵) را ثبـت نمودنـد و تیمـار چهـارم بـرخلاف غلظت بالاتری که داشت پـس از ایـن دو تیمـار و بـا اخـتلاف معنی‌دار نسبت به تیمـار شـاهد اکسـیژن محلـول را نشـان داد (p<۰/۰۵) (شکل ۳).



شکل ۳- نمودار تغییرات (میانگین± sd) در شاخص DO آب مخازن پرورش لارو میگوی بزرگ آب شیرین تحت تیمار باسیلوس سوبتیلیس. حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.

۳.۱.۲.۲. کل ذرات محلول (TDS)

طبق شکل ۵ تیمارهای سـوم و دوم بـه ترتیـب بیشـترین میزان کاهش را در سطح معنی‌دار (p<۰/۰۵) نسـبت بـه تیمـار شاهد ثبت نموده‌اند، تیمار اول تاثیر ضعیف‌تـری بـرای کـاهش سـطح ذرات نـامحلول داشـته اسـت. ایـن تیمـار نیـز کـاهش معنی‌داری در سطح (p<۰/۰۵) در مقایسه با تیمار شاهد نشـان داد (شکل ۴).



شکل ۴- نمودار تغییرات (میانگین± sd) در شاخص TDS آب مخازن پرورش لارو میگوی بزرگ آب شیرین تحت تیمار باسیلوس سوبتیلیس. حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.

بر اساس اطلاعات بدست آمده برای فاکتورهای کیفیت آب مخازن و کیفیت لارو میگوی بزرگ آب‌شیرین برای تیمار پروبیوتیکی باسیلوس سوبتیلیس در مجموع آنالیز ها دو سطح 10^7 و 10^6 بعنوان غلظت های موثر انتخاب گردیدند همچنین میزان pH در مخازن تیمارها بصورت دوره‌ای اندازه‌گیری گردید و این نتیجه برداشت شد که تیمار سوم پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس توانایی بالایی در ثابت نگهداشتن pH در طول دوره دارد و در نقش بافر عمل می‌کند (جدول ۲ و جدول ۳).

جدول ۲- میانگین (میانگین± sd) شاخصه‌های کیفیت لارو شامل؛ وزن خشک لارو، درصد بازماندگی، LSI، LCI و Ts90-Ts10 برای پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس. حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.

شاخص‌ها	تیمار اول (شاهد)	تیمار دوم B(10^6)	تیمار سوم B(10^7)	تیمار چهارم B(10^8)
وزن خشک لارو (µg)	۷۹۱±۷^a	۸۴۴±۱^c	۸۵۳±۱^c	۸۰۹±۶^b
درصد بازماندگی (٪)	۷۳±۳^a	۹۴±۲^c	۹۷±۱^c	۸۴±۱^b
LSI	۲۵/۱۶±۰/۰۹^a	۵۸/۱۱±۰/۰۱^c	۸۶/۰۸±۰/۰۱^d	۷۶/۱±۰/۰۶^b
LCI	۳۱/۱۵±۰/۱۰^a	۱۷/۰2±۰/۹۰^c	۳۵/۱۲±۰/۹۰^c	۳۵/۱۲±۰/۶۰^b
Ts90-Ts10 (h)	۴۸±۲^c	۲۶±۱^a	۲۴±۱^a	۳۵±۳^b

جدول ۳- میانگین (میانگین± sd) شاخصه‌های کیفیت آب مخازن شامل؛ DO، EC، TDS و pH برای پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس. حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.

شاخص ها	تیمار اول (شاهد)	تیمار دوم B(10^6)	تیمار سوم B(10^7)	تیمار چهارم B(10^8)
DO (mg/l)	۹/۰۴±۰/۰۶^c	۸/۰۳±۰/۱۸^a	۸/۲۴±۰/۲۸^a	۸/۷۳±۰/۰۷^b
EC (ms/cm)	۲۴۸۱۰±۷۰^c	۱۸۷۰۳±۳۹^a	۱۸۸۵۳±۳۴^a	۲۲۱۲۰±۱۵۱^b
TDS (mg/l)	۱۲۰۹۰±۲۸^c	۹۲۱۳±۳۹^a	۹۱۵۳±۳۵^a	۱۰۸۵۰±۹۰^b
pH	۹/۰۲±۰/۰۳^a	۹/۰۰±۰/۰۶^a	۹/۰۰±۰/۰۸^a	۹/۰۰±۰/۰۳^a
ORP (mv)	۲۵۲±۱^a	۳۰۶±۳^c	۳۰۹±۳^c	۲۷۷±۲^b

۳.۲. لاکتوباسیلوس پلانتاروم

۳.۲.۱. فاکتورهای کیفیت لارو

۳.۲.۱.۱. شاخص مرحله لارو (LSI)

بر اساس نتایج داده‌های شاخص مرحله لاروی (LSI) تیمارهای چهارم، سوم و دوم به ترتیب بیشترین افزایش معنی‌داری در سطح ($p<۰/۰۵$) نسبت به تیمار شاهد ایجاد کرده است (شکل ۶).

۳.۲.۱.۲. شاخص وضعیت لاروی (LCI)

برای شاخص LCI تیمارهای چهارم و سوم به ترتیب دارای بیشترین افزایش معنی‌دار در سطح ($p<۰/۰۵$) نسبت به تیمار شاهد می‌باشند (شکل ۶).

۳.۲.۲. شاخص‌های کیفی آب

۳.۲.۲.۱. اکسیژن محلول (DO)

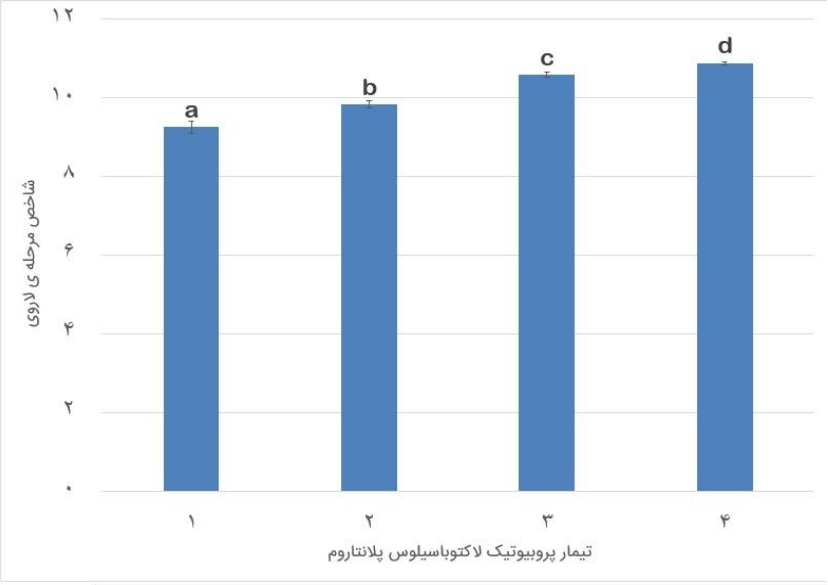
تجزیه و تحلیل داده های برداشت شده اکسیژن محلول برای پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم نشان داد تیمارهای چهارم و سوم به ترتیب بیشترین افزایش معنی‌دار در سطح ($p<۰/۰۵$) را نسبت به تیمار شاهد ثبت نمودند (شکل ۷).

۳.۲.۲.۲. کل ذرات محلول (TDS)

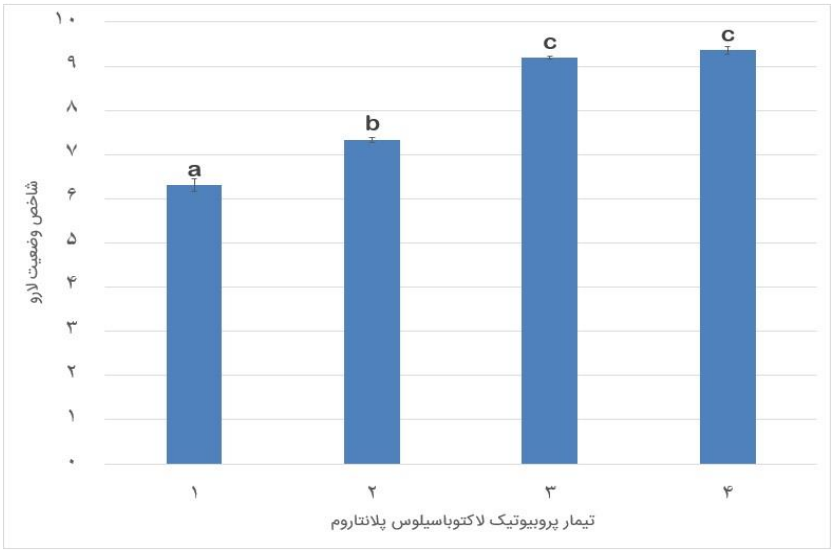
مطابق نمودار شکل ۸ میزان کل ذرات محلول (TDS) در تیمار چهارم بیشترین کاهش معنی‌دار در سطح ($p<۰/۰۵$) را نسبت به تیمار شاهد ثبت نموده است (شکل ۸).

در مورد پروبیوتیک لاکتو باسیلوس پلانتاروم نیز بر اساس اطلاعات بدست آمده برای فاکتورهای کیفیت آب مخازن و

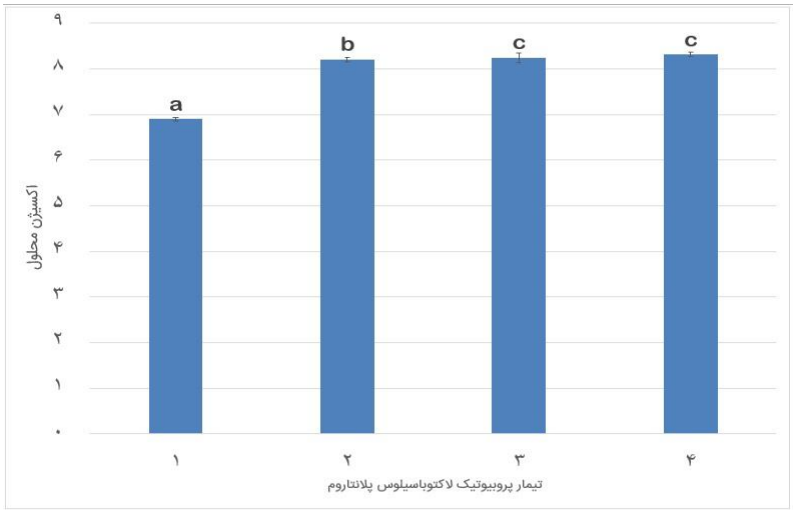
کیفیت لارو میگوی بـزرگ آب‌شـیرین در مجمـوع آنالیزهـا دو سطح 10^8 و 10^7 بعنوان غلظت‌هـای مـوثر انتخـاب گردیدنـد. همچنـین میـزان pH در مخـازن تیمارهـا بصـورت دوره ای اندازه‌گیری گردید و این نتیجه برداشت شـد کـه تیمـار چهـارم پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتـاروم توانـایی بـالایی در ثابـت نگهداشتن pH در طول دوره دارد و در نقش بافر عمل می‌کنـد (جدول ۴ و جدول ۵).



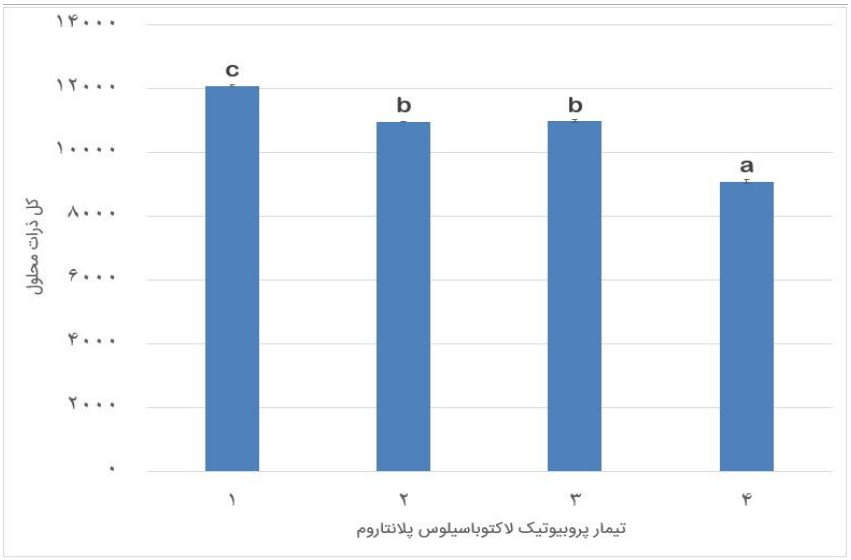
شکل ۵ – نمودار تغییرات (میانگین± sd) در شاخص LSI (21dph) لارو میگوی بزرگ آب شیرین تحت تیمار لاکتوباسیلوس پلانتاروم. حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.



شکل ۶- نمودار تغییرات (میانگین± sd) در شاخص LCI (21dph) لارو میگوی بزرگ آب شیرین تحت تیمار لاکتوباسیلوس پلانتاروم. حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.



شکل ۷- نمودار تغییرات (میانگین± sd) در شاخص DO آب مخازن پرورش لارو میگوی بزرگ آب شیرین تحت تیمار لاکتوباسیلوس پلانتاروم. حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.



شکل ۸- نمودار تغییرات (میانگین± sd) در شاخص TDS آب مخازن پرورش لارو میگوی بزرگ آب شیرین تحت تیمار لاکتوباسیلوس پلانتاروم. حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.

جدول ۵- میانگین (میانگین± sd) شاخصه‌های کیفیت لارو شامل؛ وزن خشک لارو، درصد بازماندگی، LSI، LCI و Ts90-Ts10 برای پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم. حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.

شاخص ها	تیمار اول (شاهد)	تیمار دوم L(10^6)	تیمار سوم L(10^7)	تیمار چهارم L(10^8)
وزن خشک لارو (µg)	۷۹۱±۷^a	۸۱۲±۴^b	۸۵۱±۵^c	۸۵۷±۵^c
درصد بازماندگی (٪)	۷۳±۳^a	۸۶±۳^b	۹۶±۱^c	۹۶±۲^c
LSI	۲۵/۱۶±۰/۹۰^a	۸۳/۰۹±۰/۹۰^b	۵۹/۰۷±۰/۰۱^c	۸۸/۰۵±۰/۰۱^d
LCI	۳۱/۱۵±۰/۶^a	۳۳/۰۶±۰/۷^b	۱۹/۰۳±۰/۹^{ac}	۳۱/۰۳±۰/۹^c
Ts90-Ts10 (h)	۴۸±۲^c	۳۷±۲^b	۲۵±۱^a	۲۳±۲^a

جدول ۶- میانگین (میانگین± sd) شاخصه‌های کیفیت آب مخازن شامل؛ DO، EC، TDS و pH برای پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم. حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.

شاخص ها	تیمار اول (شاهد)	تیمار دوم L(10^6)	تیمار سوم L(10^7)	تیمار چهارم L(10^8)
DO (mg/l)	۶/۹۰±۰/۰۴^a	۷/۳۸±۰/۰۹^b	۸/۲۴±۰/۰۲^c	۸/۳۲±۰/۰۵^c
EC (µs/cm)	۲۴۸۱۰±۷۰^c	۲۲۲۷۷±۱۲۰^b	۲۲۲۸۰±۵۶^b	۱۸۶۶۳±۹۳^a
TDS (mg/l)	۱۲۰۹۰±۲۸^c	۱۰۹۷۵±۱۳^b	۱۰۹۸۰±۴۸^b	۹۰۸۷±۶۴^a
pH	۹/۲±۰/۰۳^a	۹/۰۷±۰/۰۶^a	۹/۰۳±۰/۰۶^a	۹/۰۰±۰/۰۱^a
ORP (mv)	۲۵۲±۱^a	۲۷۷±۱^b	۳۱۰±۱^c	۳۱۲±۱^c

۴. بحث و نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش مشخص شد زمانی که پروبیوتیک‌های باکتریایی را به آب مخازن پرورش لاروی اضافه می‌کنیم تاثیرات مثبت و مفیدی را بر سلامت لارو، بهبود سیستم تغذیه‌ای، روند رشد و پوست‌اندازی لارو میگوی بزرگ آب شیرین و شاخصه های کیفی آب می‌گذارند که برای پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* دو غلظت 10^7 و 10^8 بدست آمدند. که همسو با نتایج تحقیق خدابنده‌لو و همکاران است که بیان کردند بیشترین مصرف پروبیوتیک در مزارع پرورش میگو می‌باشد که از مرحله آماده‌سازی استخر تا مرحله پایانی پرورش مصرف می‌شوند. آن‌ها دریافتند که پروبیوتیک‌ها باعث بالا رفتن مقاومت میگو در برابر بیماری‌ها، جلوگیری از رشد باکتری‌های مضر نظیر *سالمونلا*، *کلوستريد* و *ای‌کولای* و نهایتا ایجاد بیماری‌های جدی در میگو می‌شوند. قدرت تشکیل کلنی یک معیار مهم برای پروبیوتیک‌هاست. مزایای استفاده از پروبیوتیک‌ها بهبود و ایجاد تعادل در چرخه پوست‌اندازی، رشد میگو، بهبود ضریب تبدیل غذایی، افزایش سرعت رشد، افزایش هضم‌پذیری غذا، کمک به ترمیم بافت‌ها، بهبود زخم‌ها و غلبه بر استرس و... است (Khodabandehlo *et al*., 2011).

همچنین مشخص شد که پروبیوتیک *باسیلوس سوبتیلیس* در غلظت متوسط (10^7) و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در غلظت بالا (10^8) موجب بقای بیشتر لارو و افزایش بازماندگی میگوی بزرگ آب‌شیرین در دوره لاروی می گردد. در پژوهشی که جهت شناخت پروبیوتیک‌ها، مزایا و کاربرد آن‌ها جهت تعیین به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها صورت گرفت نمایان شد که مهم‌ترین مسئله پرورش‌دهندگان کاهش میزان رشد و بقای میگو است لذا به کارگیری باکتری‌های مفید تحت عنوان پروبیوتیک یک مولفه مهم برای افزایش ضریب بقا، رشد و بدنبال آن تولید بیشتر از طریق کنترل بیولوژیکی سیستم‌های پرورش آبزیان است (Nemati *et al*., 2011). لاکتوباسیلوس‌ها، استعداد پروبیوتیکی بالایی در زمینه بهبود رشد و فلور باکتریایی روده دارند و در نتیجه عملکرد می‌توانند فاکتورهای رشد و پرورشی ماهی کپور معمولی را در مزارع پرورشی بهبود بخشند (Alishahi *et al*., 2018). سویه‌های باکتری لاکتیک اسید به عنوان افزودنی خوراک نشان داده شده‌است که باعث رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود (Ibrahim *et al*., 2004). استفاده از پروبیوتیک‌های اسید لاکتیکی در پرورش گونه‌های آبزیان آب‌شیرین مانند تیلاپیا و کپور معمولی و همچنین گونه‌های دریایی سبب افزایش معنی‌دار در عملکرد رشد و پارامترهای پرورشی می‌شود (Bureau *et al*, 2000). استفاده از ترکیبی از لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از مجرای گوارشی مرغ منجر به افزایش شاخصه‌های رشد و بقای میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) می‌گردد (Alishahi *et al*., 2018).

پروبیوتیک‌های باکتریایی باسیلوس و لاکتوباسیلوس به میزان قابل توجهی کیفیت آب را بهبود می‌بخشند و بار آلی موجود در محیط را کاهش می‌دهند. این عملکرد سبب کنترل آلاینده‌های نیتروژنی و جذب آن‌ها بعنوان پایه نیتروژنی پروتئین باکتری می‌گردد. میررسولی و همکاران در پژوهشی تاثیر این پروبیوتیک را بر منابع آبی بررسی نمودند. که مشخص شد حضور این باکتری‌ها در منبع آبی سبب بهبود فاکتورهای کیفی آب شده است. نتایج نشان داد زمانی که آلاینده های محیطی و ضایعات توسط باکتری‌های پروبیوتیک از محیط پرورش آبزیان حذف شوند از اثرات جانبی که ممکن بود بدلیل

وجود این مواد پیش‌آید جلوگیری بعمل می‌آید و همچنین از شیوع باکتری های مضر ممانعت می‌شود. استفاده مداوم از آنتی‌بیوتیک‌ها نیز موجب مقاومت دارویی و افزایش هزینه‌ها می‌شود. لذا در تحقیقی که جهت بررسی کاربرد پروبیوتیک در آبزی‌پروری انجام پذیرفت مشاهده گردید که افزودن پروبیوتیک موجب بالا بردن کیفیت آب، افزایش ایمنی، رقابت با گونه‌های مضر و سایر میکروارگانیسم‌ها بر سر فضا و غذا شده و همچنین تعادل فلور میکروبی روده را در پی‌دارد (Mirrasouli *et al*., 2011).

پروبیوتیک‌های باکتریایی زمانی که در فلور میکروبی روده آبزیان ثابت و پایدار می‌شوند می‌توانند مواد و ترکیبات مفیدی را تولید کنند که سبب افزایش میزان هضم مواد غذایی گردند. این عملکرد در نتیجه ضریب رشد میگو را افزایش داده و منجر به رشد بالای دوره لاروی می‌شود. در مواردی پروبیوتیک‌ها از طریق تولید ویتامین‌ها، ترکیبات مسمومیت‌زدا در جیره و تجزیه ذرات غیر قابل هضم سبب تحریک اشتها و بهبود تغذیه میزبان می‌شوند. از جمله ویژگی‌های پروبیوتیک پایداری فنوتیپی و ژنوتیپی، تحمل اسید و نمک‌های صفراوی، چسبیدن به اپیتلیوم روده، تولید مواد ضد میکروبی علیه عوامل بیماری‌زای شناخته شده، پایداری طی مراحل تولید و ذخیره‌سازی باید برای انتخاب یک پروبیوتیک بالقوه مورد توجه قرار گیرد (Sodagar *et al*., 2008). استفاده تلفیقی از پروبیوتیک‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* می‌تواند بعنوان محرک رشد در ماهی آزاد آتلانتیک و قزل‌آلای رنگین کمان عمل کند (Alishahi *et al*., 2018).

در نتایج این پژوهش ملاحظه شد که لاروهایی که تحت تیمار پروبیوتیکی بودند سلامت بالایی داشتند و میزان تلفات آن‌ها نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری در سطح ($p<۰/۰۵$) را ثبت کرد این در حالیست که بیشتر مزارع پرورش میگو از آنتی‌بیوتیک‌ها به منظور درمان و حذف عامل بیماری‌های باکتریایی استفاده می‌کنند که در تحقیق باقری ورزنه و همکاران بیان شده است استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت آبزی‌پروری علاوه بر مشکلاتی که در خصوص مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در پی‌دارد، سبب ایجاد محدودیت در صادرات محصولات پرورشی نیز می‌شود لذا یافتن جایگزین مناسب برای آن یکی از موضوعات مورد توجه است. پروبیوتیک‌ها می‌توانند اثر مثبتی در افزایش ایمنی، کاهش تلفات ناشی از بیماری‌های باکتریایی و کاهش خسارات ناشی از آلودگی‌های متعدد داشته باشند بدون آنکه استفاده از آن‌ها موجب ایجاد محدودیت‌هایی که در خصوص آنتی‌بیوتیک‌ها بود، شود (Bagherivarzaneh *et al*., 2014). فولر و همکاران نیز به این نتیجه رسیدند که بعضی از باکتری‌های استفاده شده در پروبیوتیک‌ها که لاکتوباسیلوس‌ها را نیز شامل می‌شوند قادرند محرک دستگاه ایمنی باشند (Fuller *et al*., 1992).

در طول دهه‌های اخیر تولید میگو بیشترین رشد را در بخش تولید غذای جهان داشته است. طبق گزارش بانک جهانی، بیماری‌های میگو خسارات جهانی زیادی به همراه داشته است. پیامدهای منفی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری، مانند توسعه باکتری‌های مقاوم در برابر درمان منجر به پیشنهاد استفاده از باکتری‌های غیر بیماری‌زا به عنوان پروبیوتیک و عوامل کنترل کننده شده‌است (Vaseharan *et al*., 2002).

همچنین موریارتی با مقایسه مزارع پرورش میگو در اندونزی گزارش نموده است که مزارعی که از پروبیوتیک تجاری حاوی باکتری‌های باسیلوس (DMS) استفاده نموده اند به مدت ۱۶۰ روز بدون هیچگونه مشکلی میگوهای خود را پرورش داده‌اند، برعکس مزارعی که از پروبیوتیک استفاده نکرده بودند با وجود اینکه کانال آبرسان مشترکی نیز با مزارع گروه قبل داشتند، به علت بیماری ویبریو درخشنده بیش از ۸۰ روز نتوانستند به کار پرورش خود ادامه دهند (Moriarty, 1998).

نتیجه گیری نهایی

بر طبق آنچه از نتایج این پژوهش و مقایسه‌ای که با موارد مشابه بدست آمد می توان پروبیوتیک‌های باکتریایی را بعنوان مکمل‌های غذایی و محیطی برای میگوی بزرگ آب شیرین قرار داد. *باسیلوس سوبتیلیس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با عملکرد خود در هر دو مسیر فلور روده میگوی بزرگ آب شیرین و فلور آب مخازن پرورش میگو نشان دادند که دارای اثرات بهبودبخشی برای میگو یند. که البته نباید از عامل تراکم باکتری چشم‌پوشی کرد، با این توضیح که اگر باکتری در دامنه حداقلی و حداکثری خود وارد محیط نشود برای مثال در این پژوهش در مورد *باسیلوس سوبتیلیس* بهترین غلظت ها $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۶}$ مشخص شدند و غلظت $۱۰^{۸}$ اثرات کاهشی را نمایان کرد که این می‌تواند در نتیجه تراکم باکتری بصورت عامل محدود

کننده عمل کرده و مانع از شکوفایی باکتری شود.

۵. منابع

References

Alishahi, M., Tolabi, Z., Mohammadian, T., Mesbah, M., 2018. Effects of Two Probiotics, *Lactobacillus Plantarum* and *Lactobacillus Bulgaricus* on Growth Performance and Intestinal Lactic Acid Bacteria of *Cyprinus Carpio*. *Iranian Journal of Veterinary Medicine* 12(3), 207-218.

Bagherivarzaneh, M., Sanjabi, M., Zandi, M., Mirzaei, S., 2014. Use of probiotics as biological controllers in aquaculture. National Conference on Passive Defense in Agriculture. Qeshm, Iran. pp. 34.

Bogut, I., Milaković, Z., Bukvic, Z., Brkić, S., & Zimmer, R. (1998). Influence of probiotic (*Streptococcus faecium* M74) on growth and content of intestinal microflora in carp (*Cyprinus carpio*). *Czech Journal of Animal Science* 43(2), 231-235.

Bureau, B.P., Azeredo, P.A., Tapia S.M., Cuzon, G., 2000. Pattern and cost of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: potential implications and applications. *Avances en nutricion acuicola* 22(4), 19-22.

Dass, B.K.M., Venugopal, M.N., Karunasagar, I., 2007. Bacteria associated with biofilms in a *Macrobrachium rosenbergii* hatchery. *Asian Fisheries Science* 20(2), 299–307.

FAO., 2011. Fishstat Plus Version2. Rome. Report number: 11. 74p.

Fox P.F., Fuquay J.W. (Eds.), 2002. Encyclopedia of Dairy Sciences. Mississippi State University, USA, 1501-1507.

Fox P.F., Fuquay J.W, McSweeney, P.L.H. (2Eds.), 2011. Encyclopedia of Dairy Sciences. State University, 246–249p.

Fritze D., Claus D., 1995. Spore forming, lactic acid producing bacteria of the genera Bacillus and Sporolactobacillus. The Genera of Lactic Acid Bacteria. *Blackie Academic & Professional (UK)* 2(2), 368–391.

Fuller, M.J., Kelly, R.A., Smith, A.P., 1992. Economic analysis of commercial production of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* De Man 1879 PL using a recirculating 'Clearwater' culture system. *Journal of Shellfish Research* 11. 75-80.

Ghashghaei, R., Layegh, M., 2004. Probiotics are new technologies in aquaculture, *Naghshe mehr Publishers,* 125p.

Guarner, F., Malagelada, J.R., 2003. Gut flora in health and disease. *Lancet* 11(3), 512–519.

Ibrahim, F., Ouwehand, A.C., Salminen, S.J., 2004. Effect of temperature on in vitro adhesion of potential fish probiotics. *Microb Ecol Health Dis* 16(2), 222-227.

Irianto, A., Austin, B., 2002. Probiotics in aquaculture. *Fish Disease* 25(3), 633–642.

Khodabandehlo, A., Talebi, M., Mirrasoul, A., Hosseinzadeh, M., 2011. Application of probiotics in shrimp farms. 1th national conference on probiotics and special products. Islamic Azad University Science and Research Branch, Tehran. Iran. pp. 46.

Ling, S.W., 1969. The general biology and development of *Macrobrachium rosenbergii* (DeMan). FAO Fisheries Report number: 57, 589-606p.

Manuchehri, H., 2014. The probiotic role of Enterococus faecium strain in the production of healthy aquatic animals. 3th National Conference on Food Security. Islamic Azad University of Savadkuh. Iran. pp. 216.

New, M.B., 2002. Food and agriculture organization of the united nation. Rome. Report Number: 14(2), 428-431p.

Larsen, C.N., Nielsen, S., Kaestel, P., Brockmann, E., Bennedsen, M., Christensen, H.R., Eskesen, D.C., Jacobsen, BL., Michaelsen, K.F., 2006. Dose-response study of probiotic bacteria Bifidobacterium animalis subsp lactis BB-12 and *Lactobacillus paracasei* subsp paracasei CRL-341 in healthy young adults. *European Journal of Clinical Nutrition* 11(3), 1284-1293.

Mirrasoli, A., Hosseinzadeh, M., Talebi, M., Khodabandehlo, A., 2011. Application of probiotic bacteria in aquaculture. 1th national conference on probiotics and special products. Islamic Azad University Science and Research Branch, Tehran. Iran. pp. 76.

Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous Vibrio species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture* 1(2), 351-358.

Nemati, S., Amani, K., 2011. Use of probiotics as new solutions in aquaculture. 1th national conference on probiotics and special products. Islamic Azad University Science and Research Branch, Tehran. Iran. pp. 94.

Sodagar, M., Hosseinifar, S.H., 2008. Use of probiotics in aquaculture. 2th National Conference on Ecology and Agriculture of Iran. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Gorgan, Iran. pp. 67.

Talebi, M., Khodabandelo, A., Mirrasoul, A., Hosseinzadeh, M., 2010. Probiotic in Aquatic. 1th national conference on probiotics and special products. Islamic Azad University Science and Research Branch, Tehran. Iran. 1. pp. 59.

Tayamen, M., Brown, J.H., 1999. A condition index for evaluating larval quality of *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Research* 30(3), 917-922.

Uno, Y., Kwon, S., 1969. Larval development of *Macrobrachium rosenbergii* reared in the laboratory. *Journal of the Tokyo University of Fisheries* 55(2), 179-190.

Vaseeharan, B., Ramasamy, P., 2003. Control of pathogenic Vibrio spp. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Letters in Applied Microbiology* 36(4), 83-87.

Vine, N.G., Leukes, W.D., Kaiser, H., 2004. In vitro growth characteristics of five candidate aquaculture probiotics and two fish pathogens grown in fish intestinal mucus. *FEMS Microbiology Letters* 26(2), 145-152.

Wang, M., Liu, G., Lu, M., Ke, K., Liu, Z., Gao, F., Cao, J., Zhu, H., Yi, M., Yu, D., 2017. Effect of *Bacillus cereus* as a water or feed additive on the gut microbiota and immunological parameters of Nile tilapia. *Aquaculture Research* 48(2), 316-327.

W.H.O., Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food London, Ontario, Canada, April 30 and May. Report number: 1. pp 60.

Yao, R., Qiu, L., Zhang, W., Gong, A., Wang, Z., Cai, H., 2014. Isolation and characteristics of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus cereus* X7 at High Salinity. *Environmental Engineering* 12(3), 111-114.