



بررسی اثر متقابل عصاره‌های گیاهی (کنوکارپوس، یوکا و پالونیا) بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیمی هیپاتوپانکراس و کیفیت آب محیط پرورش میگوی وانامی در دو سیستم پرورش (محیط بیوفلاک و بدون بیوفلاک)

حسین آدینه^{۱*}، محمد هرسیج^۱، محمد خادمی حمیدی^۲ و عافییه ناظر^۲

۱- استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۰۸

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۰۱/۰۹

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر متقابل سیستم پرورش (بیوفلاک و بدون فلاک) و افزودنی‌های غذایی (یوکا، کنوکارپوس، پالونیا و شاهد) بر عملکرد رشد و تغذیه، فعالیت‌های آنزیمی و کیفیت آب محیط پرورش میگو پاسبید انجام شد. میگوی پا سفید با میانگین وزن 0.7 ± 0.147 گرم و 37 ± 0 سانتی‌متر در ۲۴ مخزن با حجم آبگیری ۵۰ لیتر برای ۳۰ روز ذخیره‌سازی شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار و هر یک با ۳ تکرار بود که شامل: بیوفلاک + ۱٪ عصاره‌های گیاهی یوکا (BY)، کنوکارپوس (BCO) و پالونیا (BP)، شاهد (BC) و بدون بیوفلاک + ۱٪ عصاره‌های گیاهی یوکا (Y)، کنوکارپوس (CO) و پالونیا (P)، شاهد (C). تفاوت معنی‌داری بین پارامترهای تولید میگو در بین تیمارها وجود نداشت. بیشترین وزن (1.4 ± 0.466 گرم) و کمترین ضریب تبدیل غذایی (0.4 ± 0.92) برای میگوهای پرورش یافته در تیمار BCO بدست آمد. بیشترین سطح آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در تیمارهای Y و BY به‌دست آمد. عصاره گیاه یوکا در جیره غذایی منجر به کاهش آمونیاک شد. نتایج نشان داد که از عصاره *Conocarpus erectus* برای تقویت رشد و از عصاره *Yucca schidigera* برای بهبود کیفیت آب می‌توان در سیستم بیوفلاک استفاده نمود.

کلمات کلیدی: میگوی سفید غربی، عصاره‌های گیاهی، عملکرد رشد، شاخص‌های آنزیمی، سیستم بیوفلاک، کیفیت آب



Interaction of plant extract (*Conocarpus erectus*, *Yucca schidigera* and *Paulownia fortunei*) on growth performance, hepatopancreas enzyme active and culture water quality of *Litopenaeus vannamei* in two culture system (biofloc and no-biofloc)

H. Adineh^{1*}, M. Harsij¹, M. Khademi Hamidi², A. Nazer²

1- Assistant Professor of Aquaculture, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran.

2- M.Sc. Graduated student, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous University of Gonbad, Iran.

Received: 29-Nov-2019

Accepted: 2-March-2019

Abstract

This study was carried out to evaluate the combined effect of culture system (biofloc and no-biofloc) and dietary additives (control, *Yucca schidigera*, *Conocarpus erectus* and *Paulownia fortunei*) the feed and growth performance, enzyme activities and culture water quality of *Litopenaeus vannamei*. White leg shrimp with an average weight of 1.47 ± 0.07 g and 7.00 ± 0.37 cm were stocked into 24 tanks with 50 L capacity for 30 days. The experiment was based on a completely randomized design with 8 treatments by triplicate including; Biofloc +1% herbal extracts Yucca (BY), Conocarpus (BCO), Palonia (BP), Control (BC) and Without Biofloc+ 1% herbal extracts Yucca (Y), Conocarpus (CO), Palonia (P), Control (C). There were no significant differences in shrimp production parameters between treatments. The highest weight (4.66 ± 0.14 g) and the lowest feed conversion ratio (0.92 ± 0.04) were obtained for shrimp reared in BCO. The highest levels of amylase, lipase and protease are obtained in the Y and BY treatments. Yucca extract in the diet leads to a reduction in ammonia. The results showed that *Conocarpus erectus* extract could be used to enhance growth and *Yucca schidigera* extract to improve water quality in Bio-floc system.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*, herbal extracts, enzyme index, growth performance, biofloc, water quality

۱. مقدمه

بکارگیری برخی از عصاره‌های گیاهی به منظور تحریک اشتها و افزایش رشد، تحریک جنسی، تقویت ایمنی و کاهش استرس به علت داشتن بسیاری از ترکیبات فعال مانند ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، فنول‌ها و غیره مورد توجه محققین در صنعت آبی‌پروری قرار گرفته است (Awad and Awaad, 2017). یکی از مزایای عمده استفاده از مکمل‌های گیاهی این است که طبیعی بوده و به عنوان دو ستار طبیعت می‌توانند به جای مواد شیمیایی با کمترین عوارض جانبی برای آبزیان استفاده شوند (Reverter et al., 2014). گیاه پالونیا فورتونی با نام علمی (*Paulownia fortunei*) بومی کشور چین که برگ آن با داشتن ترکیبات پلی‌ساکارید با خواص آنتی‌اکسیدانی جهت تولید داروهای گیاهی استفاده می‌گردد (Wang et al., 2019). این گیاه با داشتن ۲۵ درصد پروتئین به عنوان خوراک دام و همچنین در تولید کودهای آلی استفاده می‌شود (Bashir, 2015). گیاه کنوکارپوس ارکتوس با نام علمی (*Conocarpus erectus* L.) یکی از گیاهان زینتی در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری است که با داشتن پروتئین بین ۷ تا ۱۱ درصد (Baroon and Mohamed, 2012) و خوش طعم بودن به شکل علوفه سبز در جیره نشخوارکنندگان استفاده می‌گردد (Bashir, 2015). گیاه یوکا با نام علمی (*Yucca schidigera*) از خانواده آگواسه دارای دو جزء ساپونین استروئیدی و گلیکول می‌باشد (Cheeke, 2000) که به عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهی و پلی‌فنول‌ها دارای اثرات زیادی از جمله کاهش غلظت آمونیاک و تحریک سیستم ایمنی و جذب مواد غذایی می‌باشد (Cheeke et al., 2006). گزارش‌های محدودی در زمینه استفاده از گیاه یوکا در صنعت پرورش میگو وجود دارد که نشان می‌دهد این گیاه قابلیت کاهش آمونیاک، تحریک رشد و ایمنی و بهبود فلور روده را دارا می‌باشد که می‌تواند تاثیر عصاره یوکا بر رشد، ایمنی و کیفیت آب محیط پرورش میگوی وانامی (Yang et al., 2015)، پتانسیل عصاره یوکا برای کاهش

آلودگی آمونیاک مزارع میگو (Santacruz-Reyes and Chien, 2012)، تاثیر عصاره‌های یوکا و کویلاجا بر رشد و ترشح آنزیم میگوی وانامی پرورش یافته در شوری پایین (Hernández-Acosta et al., 2016) اشاره کرد اما تاکنون از عصاره گیاهان کنوکارپوس و پالونیا بدین منظور استفاده نشده است.

علاوه بر استفاده از برخی گیاهان در جیره غذایی به عنوان جاذب ترکیبات نیتروژن در سیستم گوارش به منظور کاهش دفع آمونیاک، امروزه در جهان برای به حداقل رسانیدن تخلیه پساب و کاهش ورود آلودگی‌های نیتروژنی به اکوسیستم‌های آبی و همچنین کاهش هزینه غذا از توده‌های زیستی بنام بیوفلاک استفاده می‌کنند (Avnimelech, 2007; Schneider et al., 2005). قابلیت پرورش در سیستم بیوفلاک برای آبزیانی فراهم است که دارای رژیم غذایی فیلترکنندگی، عادت به همه‌چیزخواری و کفزی‌خوار داشته باشند بنابراین میگوها یکی از گونه‌های کاندید پرورش در این نوع سیستم‌ها می‌باشند. میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) بومی شرق اقیانوس آرام از منطقه Sonora (مکزیک) تا Tumbes (شمال پرو) است که در حال حاضر حدود ۸۰ درصد تولیدات جهانی را به خود اختصاص داده (Bett and Vinatea, 2009). در چند سال گذشته گزارشات متعددی در ارتباط با پرورش میگوی وانامی در سیستم بیوفلاک منتشر شده است که می‌توان به مواردی چون ارزیابی دو نوع بیوفلاک مشتق شده از فعالیت بیولوژیکی ماهی به عنوان اجزای غذایی برای میگوی وانامی (Kuhn et al., 2010)، تاثیر بیوفلاک بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیم گوارشی و ترکیبات بدن میگوی وانامی (Xu and Pan, 2012)، اثرات افزودن نشاسته ذرت بر تولید، کیفیت آب و تشکیل بیوفلاک‌ها در سیستم پرورش یکپارچه میگو وانامی (*L. vannamei*)، اسفناج آبی (*Ipomoea aquatic*) و ماهی اسکات (*Scatophagus argus*) (Liu et al., 2014)، تاثیر نسبت کربن به نیتروژن در توسعه بیوفلاک، کیفیت آب و کارایی میگوی وانامی در سیستم بیوفلاک با تراکم زیاد و بدون

ذخیره‌سازی ۳۰ قطعه ذخیره‌سازی شد.

۲.۲. تهیه عصاره گیاهی (یوگا، کنوکارپوس و پالونیا)

برگ گیاه یوگا، پالونیا و کنوکارپوس تهیه و پس از تایید توسط گیاه‌شناس و برای عصاره‌گیری به آزمایشگاه شیلات انتقال داده شد. برگ‌های گیاه پس از تمیز شدن توسط دستمال نمناک برای خشک شدن در سایه قرار داده شد. برگ‌های خشک شده بوسیله آسیاب برقی پودر گردید. به ازای هر ۱۰۰ گرم پودر گیاه خشک نیز ۵۰۰ میلی‌لیتر الکل ۱ تانولی ۹۶ درصد (۴۰۰ میلی‌لیتر الکل + ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) اضافه گردید. برای ترکیب و استخراج مواد موثره، به مدت ۷۲ ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار داده شد. محتویات از کاغذ صافی عبور داده شد تا عصاره از پودر برگ جدا شود (Haghighati et al., 2003). عصاره‌ی گیاهان یوگا، کنوکارپوس و پالونیا با کمک دستگاه روتاری مدل HS2005S ساخت کشور کره در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد. عصاره بدست آمده در ظرف شیشه‌ای تیره رنگ درون یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای افزودن به جیره غذایی تجاری نگهداری گردید.

۲.۳. تولید بیوفلاک و غذادهی میگوها

مواد اولیه جهت تشکیل بیوفلاک شامل غذای میگو، آرد و سبوس، اوره، خاک بستر، ملاس بترتیب به نسبت ۵۰، ۱۰، ۰/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۷/۵ گرم به هر یک از مخازن حاوی میگوی وانامی اضافه شد. در طول دوره پرورش بر اساس میزان غذای مصرفی و برآورد مقدار نیتروژن موجود در غذا مقدار افزودنی ملاس به آب محیط پرورش تعیین تا نسبت کربن به نیتروژن ۱:۱۵ حفظ گردد. تیمارهای آزمایشی در محیط پرورش بیوفلاک ((بدون عصاره (BC)، ۱ درصد از هر یک از عصاره‌های یوگا (BY)، کنوکارپوس (BCO) و پالونیا (BP)) و محیط پرورش بدون بیوفلاک (شاهد بدون عصاره (C)، ۱ درصد از هر یک از عصاره‌های یوگا (Y)، کنوکارپوس (CO) و پالونیا (P)) طراحی شد. غذای پایه دارای ۳۶ درصد پروتئین خام، ۸ درصد چربی

تعویض آب (Xu et al., 2016)، تاثیر غلظت‌های مختلف پتاسیم و منیزیم بر عملکرد پست لارو میگوی وانامی پرورش یافته در آب با شوری کم در سیستم بیوفلاک (Zacarias et al., 2019)، استفاده از پلی بتا هیدروکسی بوتیریک به عنوان افزودنی کربوهیدرات برای بیوفلاک در سیستم بیوفلاک (Luo et al., 2019)، تاثیر نسبت‌های مختلف غذادهی بر کیفیت آب، عملکرد رشد و بقاء پست لاروهای میگوی سفید غربی با استفاده از تکنولوژی بیوفلاک (Khanjani et al., 2015) و تاثیر سطوح مختلف بیوفلاک بر کیفیت آب، عملکرد رشد و بازماندگی پست لارو میگوی وانامی (Adineh and Harsij, 2019) اشاره کرد. تحقیقات متعددی در ارتباط با تاثیر عصاره گیاه یوگا بر عملکرد رشد و بهبود کیفیت آب محیط پرورش میگو در سیستم بیوفلاک انجام شده است اما تاکنون اثرات استفاده از عصاره گیاهان کنوکارپوس و پالونیا و مقایسه آنها با عصاره گیاه یوگا پژوهشی به ثبت نرسیده است بنابراین هدف از این مطالعه بررسی عملکرد رشد، ترشح آنزیم‌های هپاتو پانکراس و کیفیت آب محیط پرورش میگوی وانامی تحت تغذیه با ۱ درصد از عصاره گیاهان کنوکارپوس، یوگا و پالونیا در دو محیط پرورش بیوفلاک و بدون بیوفلاک بود.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. تهیه میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*)

و شرایط آزمایشگاه

تعداد ۱۵۰۰ قطعه میگوی وانامی به همراه آب دریای خزر در سال ۱۳۹۷ از سایت پرورش میگو گمیشان تهیه و به آزمایشگاه مهندسی آبزیان دانشگاه گنبد کاووس انتقال یافت. برای سازگاری با شرایط آزمایشگاهی میگوها به مدت ۱۰ روز نگهداری شد. میگوها با میانگین وزنی $1/47 \pm 0/07$ گرم و طول $7/00 \pm 0/37$ سانتی‌متر در قالب طرح فاکتوریل (4×2) در ۲۴ مخزن (۸ تیمار و هر یک با ۳ تکرار) با حجم آبیگری ۵۰ لیتر و میزان

ضریب تبدیل غذایی

$$FCR = \text{food intake (g)} / \text{living weight gain (g)}$$

که در آن Food intake: غذای خورده شده (گرم) و Living weight gain: وزن بدست آمده (گرم) است.

۲.۶. سنجش آنزیم‌های هیپاتوپانکراس

قبل از نمونه برداری از هیپاتوپانکراس به مدت ۴۸ ساعت قطع غذایی انجام شد. نمونه برداری از ۷ میگو از هر تکرار بطور تصادفی انجام سپس هیپاتوپانکراس از بدن خارج و سریعاً پس از وزن شدن درون میکروتیوب‌های استریل انتقال و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره سازی شد. برای سنجش غلظت پروتئین تام نمونه‌ها هموزن و با روش برادفورد سنجیده شد که بدین منظور از آلبومین سرم گاوی (BSA) به‌عنوان اس‌تا ندارد استفاده شد (Bradford, 1976). سنجش آنزیم آمیلاز با روش ارائه شده توسط کوکیا و همکاران در طول موج ۵۵۰ نانومتر (Coccia et al., 2011)، سنجش آنزیم لیپاز با استفاده از دستورالعمل ارائه شده توسط لویز-لویز و همکاران در طول موج ۵۴۰ نانومتر (Lopez-Lopez et al., 2003) و سنجش آنزیم پروتئاز با روش ارائه شده توسط فرناندز گیمینز و همکاران در طول موج ۳۶۶ نانومتر (Fernandez Gimenez et al., 2001) انجام شد.

۲.۷. تجزیه و تحلیل داده‌ها

این پژوهش در قالب طرح فاکتوریل ۲×۴ (۸ تیمار آزمایشی و هر یک با ۳ تکرار) جهت بررسی اثر متقابل دو عامل، نوع سیستم پرورش (بیوفلاک و بدون فلاک) و نوع افزودنی گیاهی (شاهد، یوکا، کنوکارپوس و پالونیا) مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها در نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ برای رسم نمودارها و تجزیه و تحلیل آماری در محیط نرم افزار SAS انجام شد. برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. در آزمون‌های آماری سطح معنی‌دار ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ($P < 0/05$).

خام، ۴ درصد فیبر خام، ۱۴ درصد خاکستر و ۱۰ درصد رطوبت بود. جهت پایداری عصاره در آب از محلول ژلاتین ۵ درصد در جیره‌های غذایی استفاده شد. غذای آماده درون ظروف درب‌دار در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد دور از نور نگهداری شد. تغذیه میگو در ۴ نوبت به‌میزان ۴ درصد وزن بدن به‌مدت ۳۰ روز در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

۲.۴. آنالیز کیفیت آب محیط پرورش

در طول دوره پرورش هر سه روز یکبار فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب شامل شوری، درجه حرارت و اکسیژن محلول با دستگاه HACH مدل ۲۰۰۰ ساخت آمریکا و پی‌اچ آب با استفاده از پی‌اچ متر مدل ۸۲۷ مترم ساخت سوئیس اندازه‌گیری شد. روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ آزمایش مقادیر آمونیاک (TAN)، نیترات (NO₃-N)، فسفات کل (TP) و کلیاتیت با روش استاندارد آزمایشگاهی توسط دستگاه فتومتریک سنجیده شد (APHA, 1998).

۲.۵. عملکرد رشد و تغذیه

پایان دوره آزمایش و قبل از انجام نمونه برداری ۴۸ ساعت قطع غذایی انجام شد. زیست‌سنجی میگوها توسط ترازو و کولیس دیجیتالی برای محاسبه فاکتورهای چون وزن نهایی، طول نهایی، نرخ رشد ویژه، ضریب چاقی، ضریب تبدیل غذایی و نرخ بازده پروتئین بر اساس فرمول‌های ذیل انجام شد:

نرخ رشد ویژه

$$((SGR, \% \text{ day}^{-1}) = [\text{LnWt}_2 - \text{LnWt}_1 / t_2 - t_1] \times 100)$$

که در آن LnWt₂: لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی (گرم)؛ LnWt₁: لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی (گرم)؛ t₂-t₁: طول دوره آزمایش (روز) است.

$$\text{ضریب چاقی } (CF = [W (g) / L^3(\text{cm})] \times 100)$$

که در آن W (g): وزن نهایی ماهی (گرم) و L³(cm): توان سوم طول کل ماهی (سانتی متر) است.

۳. نتایج

فاکتورهای رشد و تغذیه میگوی وانامی پرورش یافته با عصاره‌های مختلف گیاهی در دو سیستم بیوفلاک و بدون بیوفلاک در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج بدست آمده از وزن نهایی نشان داد که اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت ($p > 0/05$). بیشترین و کمترین وزن نهایی بترتیب در تیمارهای BCO ($4/0 \pm 66/14$) و C ($4/0 \pm 1/4$) بدست آمد. محیط پرورش و مکمل‌های غذایی بطور مجزا و اثرمتقابل این دو عامل بر وزن نهایی میگوهای پرورشی معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). نرخ رشد ویژه میگوهای تغذیه شده با عصاره های گیاهی در دو سیستم پرورش تفاوت معنی‌دار آماری

نداشت. دو عامل محیط و مکمل بر نرخ رشد ویژه اثر متقابل نداشت ($p > 0/05$). ضریب چاقی در سیستم بیوفلاک تیمارهای BY و BCO بطور معنی‌داری بیشترین مقدار و در سیستم بدون فلاک تیمار C کمترین مقدار داشت. محیط پرورش بر ضریب چاقی اثر نداشت در حالیکه نوع مکمل غذایی بر این فاکتور اثر معنی‌دار داشت. ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت آماری معنی‌داری نداشت که در این بین کمترین این فاکتور در تیمار BCO به ثبت رسید. نرخ بازده پروتئین بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف آماری نداشت. نوع محیط پرورش و نوع مکمل غذایی بر نرخ بازده پروتئین اثر متقابل نداشت ($p > 0/05$).

جدول ۱- فاکتورهای رشد و تغذیه میگوی وانامی پرورش یافته تحت تاثیر دو عامل محیط پرورش و مکمل غذایی

نرخ بازده پروتئین	ضریب تبدیل غذایی	ضریب چاقی	نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	طول نهایی	وزن نهایی (گرم)	مکمل	محیط
$0/0 \pm 33/02$	$1/0 \pm 16/07$	$0/0 \pm 70/02^{ab}$	$3/0 \pm 46/31$	$8/0 \pm 47/13^{ab}$	$4/0 \pm 22/6^{ab}$	BC	بیوفلاک
$0/0 \pm 35/04$	$1/0 \pm 22/19$	$0/0 \pm 82/13^a$	$3/0 \pm 84/43$	$8/0 \pm 30/24^b$	$4/0 \pm 28/28^{ab}$	BY	
$0/0 \pm 40/02$	$0/0 \pm 92/04$	$0/0 \pm 82/04^a$	$4/0 \pm 23/28$	$8/0 \pm 29/08^b$	$4/0 \pm 66/14^a$	BCO	
$0/0 \pm 36/03$	$1/0 \pm 12/12$	$0/0 \pm 64/03^{ab}$	$3/0 \pm 62/37$	$8/0 \pm 88/11^a$	$4/0 \pm 46/8^{ab}$	BP	
$0/0 \pm 31/02$	$1/0 \pm 25/12$	$0/0 \pm 58/03^b$	$3/0 \pm 50/32$	$8/0 \pm 88/11^a$	$4/0 \pm 01/4^b$	C	بدون بیوفلاک
$0/0 \pm 34/03$	$1/0 \pm 18/12$	$0/0 \pm 73/56^{ab}$	$3/0 \pm 69/36$	$8/0 \pm 31/14^b$	$4/0 \pm 18/12^{ab}$	Y	
$0/0 \pm 36/03$	$1/0 \pm 10/11$	$0/0 \pm 76/07^{ab}$	$3/0 \pm 79/35$	$8/0 \pm 39/18^b$	$4/0 \pm 37/17^{ab}$	CO	
$0/0 \pm 36/02$	$1/0 \pm 05/07$	$0/0 \pm 66/04^{ab}$	$4/0 \pm 00/28$	$8/0 \pm 69/16^{ab}$	$4/0 \pm 27/15^{ab}$	P	
0/418	0/633	0/180	0/872	0/456	0/142		اثر محیط
0/240	0/301	0/024	0/503	0/004	0/186		اثر مکمل
0/866	0/685	0/707	0/686	0/285	0/969		اثر متقابل
NS	NS	NS	NS	NS	NS		

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی‌دار آماری است ($p < 0/05$).

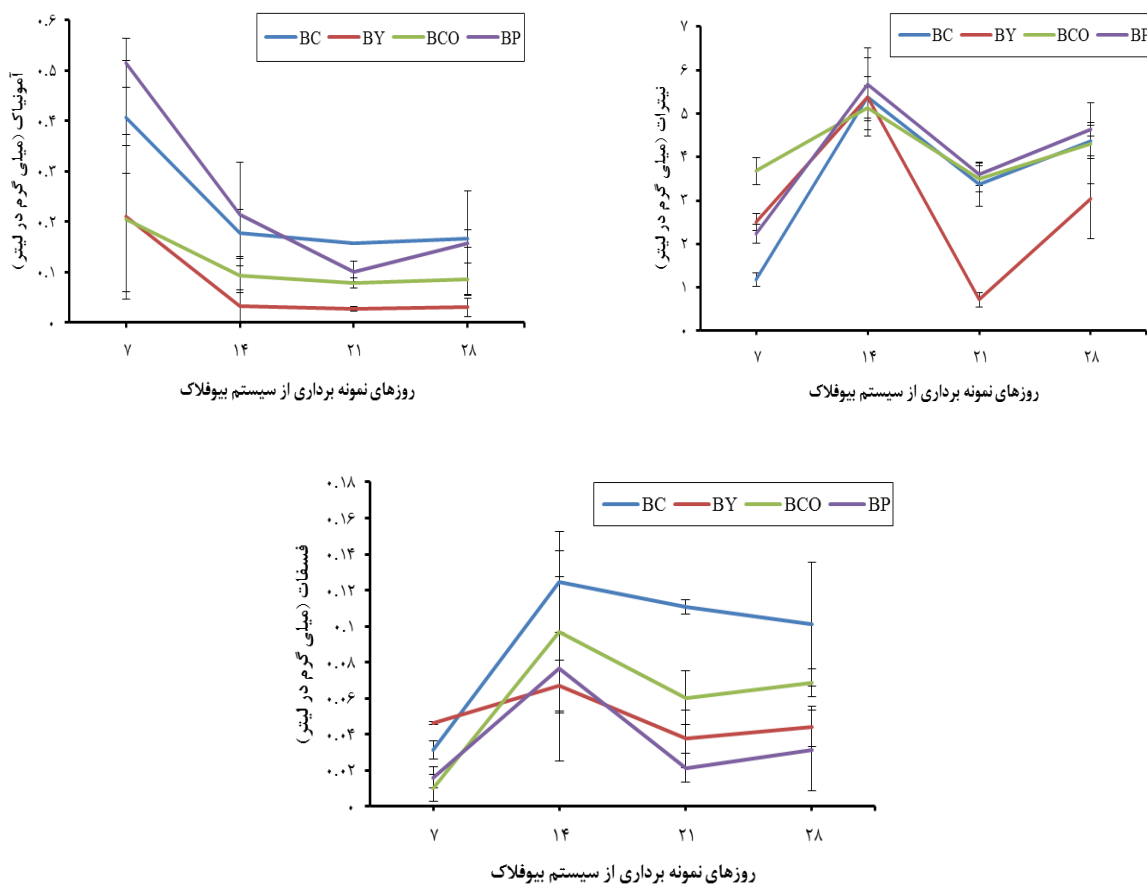
آماري معنی‌دار داشت ($p < 0/05$). بیشترین و کمترین مقدار این آنزیم بترتیب برابر $7/15 \pm 0/14$ در تیمار Y و $5/0 \pm 11/17$ در تیمار BP بدست آمد.

آنالیز آنزیم‌های گوارشی آمیلاز، لیپاز و پروتئاز هپاتوپانکراس میگوی وانامی پرورش یافته تحت تاثیر دو عامل محیط پرورش و مکمل غذایی در جدول ۲ آورده شده است. مقدار آمیلاز بین تیمارهای آزمایشی اختلاف

جدول ۲- آنالیز آنزیم‌های هیپاتوپانکراس میگوی وانامی پرورش یافته تحت تاثیر دو عامل محیط پرورش و مکمل غذایی

محیط	مکمل	آمیلاز	لیپاز	پروتئاز
بیوفلاک	BC	۶/۰±۷۰/۰۵ ^c	۰/۰±۲۳/۰۰۷ ^c	۱/۰±۷۹/۱۴۰ ^b
	BY	۷/۰±۰۰/۰۲ ^{ab}	۰/۰±۲۷/۰۰۱ ^b	۲/۰±۰۵/۰۷۰ ^a
	BCO	۶/۰±۵۹/۰۲ ^c	۰/۰±۲۳/۰۱۱ ^c	۱/۰±۷۷/۱۲۰ ^b
	BP	۵/۰±۱۱/۱۷ ^e	۰/۰±۱۸/۰۲۸ ^e	۱/۰±۴۹/۰۸۰ ^c
بدون فلاک	C	۵/۰±۶۷/۳۶ ^d	۰/۰±۲۰/۰۱۳ ^{de}	۱/۰±۷۷/۰۱۵ ^b
	Y	۷/۰±۱۵/۱۴ ^a	۰/۰±۳۲/۰۰۳ ^a	۲/۰±۱۱/۰۱۵ ^a
	CO	۶/۰±۷۹/۱۰ ^{bc}	۰/۰±۲۳/۰۲۷ ^c	۱/۰±۸۰/۰۵۵ ^b
	P	۵/۰±۷۶/۱۳ ^d	۰/۰±۲۱/۰۰۱ ^{de}	۱/۰±۷۹/۰۲۵ ^b
اثر محیط		۰/۸۹۶۶	۰/۲۴۷	۰/۰۱۱
اثر مکمل		۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
اثر متقابل		۰/۰۰۰	۰/۰۰۴	۰/۰۱۳
		S	S	S

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی‌دار آماری است (p < ۰/۰۵).



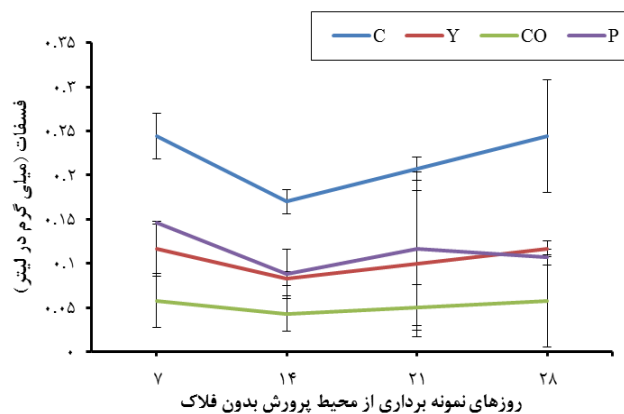
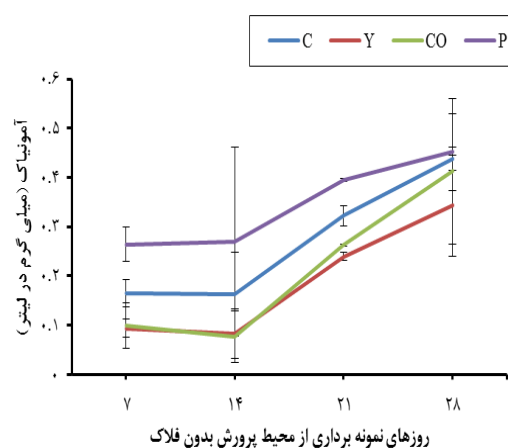
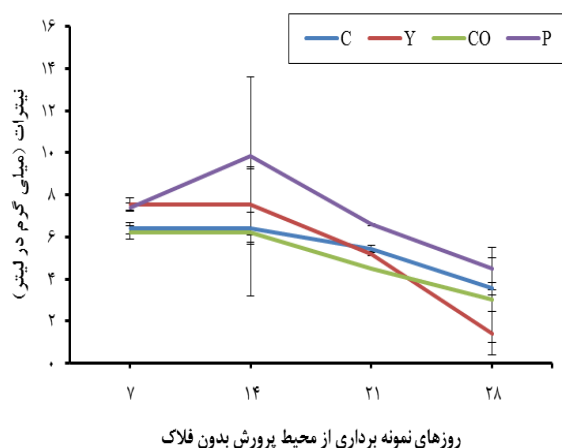
شکل ۱- غلظت آمونیاک، نیترات و فسفات محیط پرورش میگو تغذیه شده با انواع مکمل‌های گیاهی در سیستم بیوفلاک

معنی‌دار آماری داشت ($p < 0/05$).

شکل ۱ آنالیز کیفی آب محیط پرورش میگو در سیستم بیوفلاک را نشان می‌دهد. در طول دوره نمونه‌برداری (روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸) کمترین مقدار آمونیاک در تیمار استفاده‌کننده از عصاره یوکا در سیستم بیوفلاک (BY) و بیشترین مقدار آن در تیمار شاهد و پالونیا به ثبت رسید. بیشترین مقدار نیترات در روز ۱۴ آزمایش بدست آمد که در تیمار BY نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی کمتر بود. تیمار شاهد بیشترین مقدار فسفات و تیمارهای استفاده از عصاره پالونیا در جیره غذایی کمترین مقدار فسفات را داشتند (شکل ۱).

در شکل ۲ آنالیز برخی فاکتورهای کیفی آب محیط پرورش میگوی وانامی تحت تغذیه با انواع عصاره‌های گیاهی آورده شده است.

مقدار آمیلاز مترشحه تحت تاثیر محیط قرار گرفت در حالیکه نوع مکمل بر مقدار این آنزیم تاثیرگذار بود. نوع محیط پرورش و نوع مکمل غذایی بر آنزیم آمیلاز اثرمتقابل داشت ($p < 0/05$). مقدار لیپاز هیپاتوپانکراس بین تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری داشت بطوریکه بیشترین آن در تیمار Y و کمترین مقدار آن در تیمار BP بدست آمد. نوع محیط پرورش بر مقدار لیپاز تاثیر نداشت در حالیکه نوع مکمل بر مقدار ترشح این آنزیم تاثیر معنی‌دار آماری داشت ($p < 0/05$). نوع محیط پرورش و نوع مکمل غذایی بر آنزیم لیپاز اثرمتقابل داشت ($p < 0/05$). بیشترین مقدار پروتئاز در تیمارهای استفاده‌کننده از عصاره یوکا در دو محیط پرورش (BY و Y) بدست آمد و کمترین مقدار آنزیم پروتئاز در تیمار BP به ثبت رسید. نوع محیط پرورش و نوع مکمل غذایی بر مقدار آنزیم پروتئاز هیپاتوپانکراس اثر



شکل ۲- غلظت آمونیاک، نیترات و فسفات محیط پرورش میگو تغذیه شده با انواع مکمل‌های گیاهی بدون بکارگیری از سیستم

حاضر گزارش شده است که استفاده از مکمل گیاهی مانند یوکا به میزان ۰/۲ درصد باعث افزایش معنی‌دار وزن بدست آمده شد در حالیکه ضریب تبدیل غذایی در طول دوره پرورش میگوی وانامی تغییر نکرد (Yang et al., 2015). ساپونین‌های موجود در گیاه یوکا به عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهی و پلی‌فنول‌ها دارای اثرات زیادی منجمله کاهش غلظت آمونیاک و تحریک سیستم ایمنی و جذب مواد غذایی می‌باشد (Cheeke et al., 2006). وجود این مواد در غذای آبزیان می‌تواند با کاهش کشش سطحی شیره معده (غذا و آنزیم گوارشی) موجب نفوذ هر چه بیشتر آنزیم‌ها در غذا شده و از این راه باعث افزایش هضم‌پذیری و مصرف بهینه غذا گردد. ساپونین‌ها جزء ترکیبات دیواره سلولی باکتری‌های ترشح‌کننده آنزیم‌های سلولولیتیک و آمیلولیتیک هستند (Wang et al., 2000). این آنزیم‌ها هضم پروتئین‌های ساده و پیچیده، چربی‌ها، سلولوز و کیتین را در روده تسهیل می‌نمایند (Bairagi et al., 2002). همچنین از آن‌ها به عنوان یک مکمل غذایی به منظور تعدیل فلور میکروبی در روده، نقش آن در سیستم ایمنی و جذب مواد مغذی به اثبات رسیده است (Cheeke et al., 2006). تحقیقات بر اثربخش بودن سایر گیاهان در جیره غذایی میگو انجام شده است که در این خصوص می‌توان به تاثیر تغذیه با آرتمیای غنی شده با عصاره الکی برگ گیاه حرا (*Avicennia marina*) بر عملکرد رشد، بازماندگی و تحمل استرس پست لارو میگوی سفید غربی به مدت ۳۰ روز اشاره کرد. نتایج نشان داد که استفاده از غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۴ گرم در لیتر عصاره برگ گیاه حرا باعث بهبود کیفیت پست لاروها شد (Hajian et al., 2017). در این تحقیق میگوی وانامی در دو محیط حاوی فلاک و بدون فلاک به مدت ۳۰ روز پرورش داده شد که اثر متقابل از نظر مقادیر بدست آمده از فاکتورهای رشد و تغذیه یافت نشد. سیستم بیوفلاک توده زیستی متشکل از مجموع میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری، قارچ، کرم، جلبک و غیره بصورت زنده و مرده می‌باشد (Emerenciano et al., 2011) که نقش مهمی در افزایش راندمان تولید از طریق ارتقاء عملکرد رشد و

آمونیاک در تیمارهای بدون بیوفلاک با گذشت زمان رو به افزایش بود. مقایسه بین تیمارهای آزمایشی نشان داد که بیشترین و کمترین میزان آمونیاک بترتیب در تیمارهای پالونیا و یوکا بدست آمد. نیترا با گذشت زمان کاهش یافت بطوریکه بیشترین مقدار آن در تیمار پالونیا و کمترین نیترا در زمان ۲۸ نمونه برداری در تیمار یوکا به ثبت رسید. در طول دوره نمونه برداری از آب محیط پرورش بیشترین مقدار فسفات در تیمار شاهد و بیشترین مقدار این معیار در تیمار کنوکارپوس بدست آمد.

۴. بحث و نتیجه گیری

بسیاری از مطالعات ثابت کرده‌اند که می‌توان از محصولات گیاهی به عنوان محرک‌های اشتهای رشد استفاده کرد که معمولاً این فرایند با افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی همراه است (Syahidah et al., 2015; Van Hai, 2015). در این مطالعه عملکرد رشد و تغذیه میگوی وانامی تحت تغذیه با سه عصاره گیاهی در دو محیط پرورش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین وزن نهایی در تیمار مصرف‌کننده کنوکارپوس در محیط بیوفلاک (BCO) و کمترین آن در تیمار شاهد (C) بدست آمد. تاکنون مطالعات متعددی در ارتباط با تاثیر مثبت استفاده از عصاره و پودر گیاه یوکا بر عملکرد رشد، تغییرات آنزیمی و ایمنی و همچنین کیفیت آب محیط پرورش ماهی و میگو به ثبت رسیده است اما تاکنون در خصوص بکارگیری عصاره‌های گیاهان پالونیا و کنوکارپوس در جیره غذایی میگو تحقیقاتی صورت نگرفته است. مطالعه صورت گرفته در ارتباط با تاثیر بکارگیری مخلوط عصاره‌های یوکا (*Yucca schidigera*) و کویلاجا (*Quillaja saponaria*) در جیره غذایی بر عملکرد رشد و فعالیت‌های آنزیمی میگوی وانامی پرورش یافته در محیط با شوری کم به مدت ۴۰ روز حاکی از این است که میگو تغذیه شده با مخلوط ۱ و ۲ گرم عصاره دارای وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی متفاوتی نسبت به تیمار شاهد داشت (Hernández-Acosta et al., 2016). موافق با تحقیق

در تانک‌های بدون تعویض آب و دستکاری نسبت C/N غذا به مدت ۳۰ روز نشان داد که بیوفلاک می‌تواند عملکرد رشد و کارایی تغذیه میگوهای پرورشی را ارتقاء و فعالیت آمیلاز و پروتئاز را افزایش دهد (Xu and Pan, 2012) که این امر ممکن است از طریق فراهم شدن منبع غذایی مکمل و افزایش استفاده و هضم غذا باشد. هر چند طرح آزمایش هر یک از تحقیقات با یکدیگر متفاوت است اما بطور کلی این تحقیقات حاکی از این است که عصاره گیاه یوکا می‌تواند در مقایسه با دیگر عصاره‌های گیاهی باعث افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی شود و محیط پرورش همچون وجود یا عدم وجود بیوفلاک نتوانست بر ترشح آنزیم‌های هپاتوپانکراس موثر باشد.

در بکارگیری تکنولوژی بیوفلاک تنظیم نسبت کربن به ازت باعث فعال شدن باکتری‌های هتروتروفی و کاهش غلظت آمونیاک در محیط پرورش می‌گردد (Asaduzzaman *et al.*, 2008). علاوه بر این گزارشات مبنی بر این است که در بین عصاره‌های گیاهی، عصاره گیاه یوکا دلیل دارا بودن ترکیباتی همچون ساپونین‌های استروئیدی، پلی ساکاریدها و پلی فنل‌ها دارای ظرفیت جذب زیادی برای ترکیبات فرار مضر مانند آمونیاک و سولفید هیدروژن است (Yang *et al.*, 2015). در این مطالعه میزان آمونیاک کل بین تیمارهای آزمایشی تفاوت داشت که بیشترین میزان آن در سیستم بیوفلاک مربوط به تیمار BP و BC است که این نشان از اثر منفی افزودن عصاره‌های پالونیا و کونوکارپوس بر کیفیت آب در سیستم بیوفلاک است که ممکن است دلیل برهم خوردن تعادل باکتری‌های هتروتروفی در این سیستم پرورشی باشد. در همین راستا، بکارگیری ۰/۲ درصد عصاره یوکا در جیره غذایی میگوی وانامی منجر به کاهش معنی‌دار ترکیبات نیتروژنی و فسفات محیط پرورش شد (Yang *et al.*, 2015). افزودن سطوح مختلف عصاره یوکا به میزان ۱۸، ۳۶ و ۷۲ میلی‌گرم در لیتر در محیط پرورش و ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی میگو وانامی تحت تاثیر مقادیر ۰/۵۹۲، ۰/۶۷۲ و ۷۱۸ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک (TAN) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزودن ۱۸

تغذیه دارد (Wasielesky *et al.*, 2006) در حالیکه در این تحقیق مقادیر بدست آمده از رشد و تغذیه میگوی وانامی در دو محیط مختلف پرورش (فلاک و بدون فلاک) تفاوت معنی‌دار آماری وجود نداشت و تنها تیمار BCO (عصاره گیاه کونوکارپوس در سیستم بیوفلاک) نسبت به دیگر تیمارها وضعیت بهتری داشت. برگ گیاه کونوکارپوس خوش خوراک بوده و گیاهی جذاب برای مصرف حیوانات است (Bashir, 2015) که ممکن است یکی از عوامل اشتها در تغذیه محسوب شود. گزارشات جدید مبنی بر این است که گیاه پالونیا با داشتن پلی‌ساکارید می‌تواند باعث بهبود فاکتورهای ایمنی شده که در تغذیه دام و طیور استفاده می‌گردد (Wang *et al.*, 2019). هر یک از گیاهان دارای طیف گسترده‌ای از ساختار شیمیایی و فعالیت‌های بیولوژیکی هستند که شناخت و پردازش خواص هر یک از آنها نیازمند پژوهش‌های پایه و کاربردی در زمینه‌های مختلف است (Silva and Fernandes, 2010).

هپاتوپانکراس در بدن میگو غده‌ی اصلی گوارشی محسوب می‌شود که یک شاخص حساس برای سنجش متابولیسم میگو بوده که در آن فعالیت آنزیم‌های گوارش نقش مهمی در فیزیولوژی رشد و تغذیه دارد. در تحقیق حاضر، بیشترین سطح فعالیت آنزیم‌های گوارشی هپاتوپانکراس همچون آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در تیمارهای Y و BY به دست آمد. عصاره‌های گیاهی و محیط پرورش بر ترشح آنزیم‌های گوارشی اثر متقابل داشت. در همین راستا، افزودن ۰/۲ و ۰/۳ درصد گیاه یوکا در جیره میگوی وانامی می‌تواند میزان فعالیت پروتئاز هپاتوپانکراس را افزایش دهد (Yang *et al.*, 2015). در تضاد با یافته‌های حاضر، بکارگیری مخلوط عصاره‌های یوکا و کویلاجا در جیره میگوی وانامی تاثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های هپاتوپانکراس نداشت (Hernández-Acosta *et al.*, 2016). سیستم بیوفلاک به عنوان یک محیط غنی از مواد غذایی بصورت توده میکروبی نسبت به محیط بدون فلاک مطرح است (Ekasari *et al.*, 2010). بررسی عملکرد رشد، آنزیم‌های هضمی میگوی وانامی جوان با میانگین $0/22 \pm 6/95$ گرم

تغذیه در محیط بیوفلاک و بدون بیوفلاک نداشتند درحالیکه مصرف عصاره گیاه یوکا در جیره میگو باعث افزایش ترشحات آنزیمی هپاتوپانکراس و کاهش آمونیاک محیط پرورش در مقایسه به دیگر تیمارهای آزمایشی شد.

تقدیر و تشکر

این مقاله استخراج از طرح ثبت شده به شماره ۶/۳۹۰ در دانشگاه گنبد کاووس می‌باشد. نویسندگان از حمایت مالی معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

میلی‌گرم در لیتر و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره یوکا منجر به کاهش ۵۰ تا ۸۳ درصد آمونیاک تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد شد (Santacruz-Reyes and Chien, 2012) که نتایج نشان از توانایی بالای عصاره یوکا در کاهش آلودگی ناشی از تجمع آمونیاک در محیط آب پرورش می‌باشد. در صنعت آبی‌پروری استفاده از مکمل‌های غذایی یکی از روش‌های متداول برای بهبود افزایش وزن، کارایی غذا بهبود کیفیت آب و مقاومت به بیماری است (Cho, 2012). بطور کلی نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که استفاده از عصاره‌های گیاهی تاثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد و

References

- Adineh, H., Harsij, M., 2019. Effect of different levels of biofloc on water quality, growth performance and survival of *Litopenaeus vannamei* post larvae. *Journal of Veterinary Research* 73(4), 393-401. (In Persian)
- American Public Health Association (APHA), 1998. In: Clescert, L., Greenberg, A., Eaton, A. (Eds.), *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20th edition. Washington, USA.
- Asaduzzaman, M., Wahab, M.A., Verdegem, M.C.J., Huque, S., Salam, M.A., Azim, M.E., 2008. C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. *Aquaculture* 280, 117-123.
- Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture* 264(1-4), 140-147.
- Awad, E., Awaad, A. 2017. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish and shellfish immunology* 67, 40-54.
- Bairagi, A., Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. Excretion of juvenile striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquaculture Research* 1-8.
- Baroon, Z., Mohamed, A.R., 2012. Nutritional evaluation and trial of ensiled *conocarpus greenery* residue. *Explore Agriculture* 48 (1), 138-147.
- Bashir, M., Uzair, M., Chaudhry, B.A., 2015. A review of phytochemical and biological studies on *conocarpus erectus combretaceae*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Research* 1(1), 1-8.
- Bett, C., Vinatea, L., 2009. Combined Effect of body weight, temperature and salinity on shrimp *Litopenaeus vannamei* oxygen consumption rate. *Brazilian Journal of Oceanography* 57(4), 305-314.
- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. – *Anal. Biochem* 72, 248-254.
- Cheeke, P.R., 2000. Actual and potential applications of *yucca schidigera* and *quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. *Proceedings american society of animal science, Proceedings* 45, 241-254.
- Cheeke, P.R., Piacente, S., Oleszek, W., 2006. Anti-inflammatory and anti-arthritis effects of *Yucca schidigera*: a review. *Journal of Inflammation* 3(1), 6.
- Cho, S.H., 2012. Onion powder in diet of the olive flounder (*Paralichthys olivaceus*): effects on the growth, body composition and lysozyme activity. *Journal of the World Aquaculture Society* 43(1), 30-38.

- Coccia, E., Varricchio, E., Paolucci, M., 2011. Digestive Enzymes in the Crayfish *Cherax albidus*: Polymorphism and partial characterization. *International Journal of Zoology* 1–9, 310-371.
- Ekasari, J., Crab, R., Verstraete, W., 2010 Primary nutritional content of bio-flocs cultured with different organic carbon sources and salinity. *Hayati Journal of Biosciences* 17(3), 125-130.
- Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O., Wasielesky, W., 2011. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research* 43, 447-457.
- Fernandez Gimenez, A.V., GarciaCarren, F.L., Navarrete Del Toro, M.A., Fenucci, J.L., 2001. Digestive proteinases of red shrimp *Pleoticus muelleri* (Decapoda, Penaeoidea): Partial characterization and relationship with molting. *Comparative Biochemistry and Physiology (B)* 130, 331–338.
- Haghighati, F., Jafari, S., BEYT, E.J., 2003. Comparison of antimicrobial effects of ten Herbal extracts with chlorhexidine on three different oral pathogens; an in vitro study. *Hakim Research Journal* 71-76. (In Persian)
- Hajian, M., Sourinejad, I., Dashtian Nasab, A., Naji, A 2017. Effect of dietary supplementation of enriched Artemia with ethanolic leaf extract of grey mangrove *Avicennia marina* on growth performance, survival and stress resistance in Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) postlarvae. *Aquatic Physiology and Biotechnology* 5 (3), 75-94. (In Persian)
- Hernández-Acosta, M., Gutiérrez-Salazar, G.J., Guzmán-Sáenz, F.M., Aguirre-Guzmán, G., Alvarez-González, C.A., López-Acevedo, E.A., Fitzsimmons, K., 2016. The effects of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* on growth performance and enzymes activities of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured in low-salinity water. *Latin American Journal of Aquatic Research* 44(1), 121-128.
- Khanjani, M., Sajjadi, M., Alizadeh, M., Sourinejad, I., 2015. Effect of different feeding levels on water quality, growth performance and survival of western white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) post larvae with application of biofloc technology. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 24 (2), 13-27. (In Persian)
- Kuhn, D.D., Lawrence, A.L., Boardman, G.D., Patnaik, S., Marsh, L., Flick Jr, G.J., 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 303(1-4), 28-33.
- Liu, L., Hu, Z., Dai, X., Avnimelech, Y., 2014. Effects of addition of maize starch on the yield, water quality and formation of bioflocs in an integrated shrimp culture system. *Aquaculture* 418–419, 79–86.
- Lopez-Lopez, S., Nolasco, H., Vega-Villasante, F., 2003. Characterization of digestive gland esterase–lipase activity of juvenile redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology (B)* 135, 337–347.
- Luo, G., Liu, Z., Shao, L., Tan, H., 2019. Using poly-β-hydroxybutyric as an additional carbohydrate for biofloc in a shrimp *Litopenaeus vannamei* bioflocs nursery system with brackish water. *Aquaculture*.
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture* 433, 20: 50-61.
- Santacruz-Reyes, R.A., Chien, Y.H., 2012. The potential of *Yucca schidigera* extract to reduce the ammonia pollution from shrimp farming. *Bioresource technology* 113, 311-314.
- Schneider, O., Sereti, V., Eding, E.H., Verreth, J.A.J., 2005. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquaculture Engineering* 32, 379–401.
- Silva, N., Fernandes Júnior, A., 2010. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 16, 402-13.
- Syahidah, A., Saad, C.R., Daud, H.M., Abdelhadi, Y.M. 2015. Status and potential of herbal applications in aquaculture: A review. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14(1): 27-44.
- Van Hai, N. 2015. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: a review. *Aquaculture* 446, 88-96.
- Wang, Q., Meng, X., Zhu, L., Xu, Y., Cui, W., He, X., Zhu, R., 2019. A polysaccharide found in *Paulownia fortunei* flowers can enhance cellular and humoral immunity in chickens. *International journal of biological macromolecules* 213-219.
- Wang, Y., McAllister, T.A., Yanke, L.J., Xu, Z.J., Cheeke, P.R., Cheng, K.J., 2000. In vitro effects of steroidal saponins from *Yucca schidigera* extract on rumen microbial protein synthesis and rumen fermentation. *Journal of the science of food and agriculture* 80, 2122-2214.

- Wasielesky Jr, W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L., 2006 Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258, 396-403.
- Xu, W.J., Morris, T.C., Samocha, T.M., 2016. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. *Aquaculture* 453, 169-175.
- Xu, W.J., Pan, L.Q., 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. *Aquaculture* 356, 147-152.
- Yang, Q.H., Tan, B.P., Dong, X.H., Chi, S.Y., Liu, H.Y., 2015. Effects of different levels of *Yucca schidigera* extract on the growth and nonspecific immunity of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and on culture water quality. *Aquaculture* 439, 39-44.
- Zacarias, S., Schweitzer, R., Arantes, R., Galasso, H., Pinheiro, I., Espirito Santo, C., Vinatea, L., 2019. Effect of different concentrations of potassium and magnesium on performance of *Litopenaeus vannamei* postlarvae reared in low-salinity water and a biofloc system. *Journal of Applied Aquaculture* 31(1), 85-96.