بررسی تاثیر پروبیوتیک (*Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis*) بر تراکم و قابلیت هضم میگوی وانامی (*Litopeneaus vannamei*)

- **حمید رئیسی***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۱۵۷۳۹-۴۹۱۳۸
- **ولی‌اله جعفری**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۱۵۷۳۹-۴۹۱۳۸
- **سعید ضیایی‌نژاد**: گروه شیلات، دانشکده محیط زیست و منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیا بهبهان
- **علی‌اکبر پاسندی**: اداره کل شیلات استان گلستان، گرگان

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۳

چکیده

در این مطالعه بررسی تاثیر پروبیوتیک (*Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis*) بر قابلیت هضم پروتئین خام، ماده خشک، خاکستر، چربی، آمینو اسیدهای ضروری و غیرضروری برای میگوی وانامی (*Litopeneaus vannamei*) مورد آزمایش قرار گرفت. میگوها با وزن اولیه ۰/۲۹ گرم ذخیره سازی شدند. تیمارهای مورد استفاده شامل T1 (تراکم ۳۰۰ قطعه میگو در مترمربع و غلظت ۱۰۱۰×۱ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا)، T2 (تراکم ۳۰۰ قطعه میگو در مترمربع و ۱۰۱۰×٤ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا)، T3 (تراکم ۲۵۰ قطعه میگو در مترمربع، ۱۰۱۰×۱ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا) و T4 (تراکم ۳۰۰، ۱۰۱۰×٤ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم) به‌همراه دو تیمار شاهد (C1 با تراکم ۳۰۰ قطعه میگو در مترمربع و C2 با تراکم ۲۵۰ قطعه میگو در مترمربع) در ۱۸ مخزن به‌مدت ۸ هفته تغذیه شدند. جهت بررسی قابلیت هضم میگو از اکسید کروم ۳٪ به‌عنوان نشانگر استفاده شد. قابلیت هضم تیمارهای T2 و T4 در کل بخش‌ها به‌جز در ماده خشک بیش‌ترین مقدار را داشت و افزایش معنی‌داری را با تیمارهای شاهد نشان داد ($p<0/05$). اما تیمارهای T1 و T3 افزایش معنی‌داری را در مقدار چربی و ماده خشک با تیمارهای شاهد نشان نداد ($p>0/05$)، ولی در مقدار قابلیت هضم آمینواسید و خاکستر ارتباط معنی‌داری بین تیمارهای (T1 و T3، T2 و T4) و تیمارهای شاهد مشاهده شد ($p<0/05$). در کل تیمارها قابلیت جذب اسید آمینه نسبت به سایر موارد بیش‌ترین مقدار را داشت. اما تاثیر پروبیوتیک در تراکم‌های مختلف در کل تیمارها به اندازه‌ای نبود که رابطه معنی‌داری را برقرار کند.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، میگوی وانامی، آمینواسید، قابلیت هضم، تراکم

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Hamidraisi444@gmail.com

مقدمه

در طول دهه گذشته، افزایش جمعیت و استانداردهای زندگی عامل مهمی در افزایش آبزی‌پروری بوده است (Sooking و همکاران، ۲۰۱۱). با توجه به افزایش تقاضا نسبت به تولیدات دریایی، استفاده از این محصولات تا حد قابل توجه‌ای افزایش یافته است. به‌همین منظور استفاده از این منابع به‌طور کامل باعث کاهش قابل توجه‌ای از ذخایر گردید. این عامل سبب بهره‌برداری بیش‌تر از ۳۳٪ از منابع (Hossain و همکاران، ۲۰۱۳؛ Sooking و همکاران، ۲۰۱۱) و تخلیه به اصطلاح نامحدود آن را به‌دنبال داشته است. بنابراین پرورش متراکم میگو یکی از عوامل اصلی به‌منظور برآورد نیاز میگو می‌باشد، که با انجام آن در بسیاری از کشورهای پیشرفته توانسته علاوه بر فراهم ساختن و از بین بردن مشکلات و کمبود پروتئین‌های انسانی، سود سرشاری را در اختیار پرورش‌دهندگان قرار دهد. پروبیوتیک‌ها باکتری‌های زنده‌ای می‌باشند که از طریق برقرار ساختن حالت تعادل در روده، افزایش ارزش غذائی، افزایش آنزیم‌های هضم‌کننده، تقویت سیستم ایمنی و ممانعت در رشد پاتوژن‌ها تاثیر مهمی روی سلامت میزبان دارند (Kongnum و Hongpattarakere، ۲۰۱۱). بسیاری از پروبیوتیک‌ها قادرند از طریق ترشح پیش آنزیم‌ها سبب بهبود قابلیت هضم و جذب و کیفیت آب گردند (Liu و همکاران، ۲۰۰۴). از میکروارگانیزم‌های پروبیوتیکی گوناگون به‌منظور بهبود استفاده از مواد مغذی در دستگاه گوارش بهره‌برداری زیادی شده است تحقیق روی پروبیوتیک‌ها بیش‌تر به‌دلیل جنبه‌های مثبت زیست‌محیطی می‌باشد (Rengipipat و همکاران، ۲۰۰۴).

فلور باکتریایی دستگاه گوارش تا اندازه‌ای به محیط بیرونی، و جریان آبی بستگی دارد که از دستگاه گوارش میگو و یا سخت‌پوست عبور می‌کند (Carnevali و همکاران، ۲۰۰۴). میگو وانامی (*Litopeneaus vannamei*) یکی از گونه‌هایی است که به‌دلیل مقاومت بالا و پتانسیل زیاد در تراکم‌های بالا و قدرت ماندگاری در سراسر دنیا پراکنده شده است. قابلیت هضم میگو به‌وسیله دانشمندانی مانند Smith و همکاران (۱۹۸۵) انجام شده است. دستیابی اطلاعات در مورد قابلیت هضم می‌تواند تاثیر زیادی بر بهبود ترکیبات رژیم غذایی داشته باشد (Moss و همکاران، ۲۰۰۴). با توجه به تاثیر پروبیوتیک بر قابلیت هضم، کم‌تر اقداماتی صورت گرفته است که می‌تواند افق روشنی نسبت به تاثیر استفاده از این مواد بر تراکم و قابلیت هضم پیش‌پای پرورش‌دهندگان بگشاید. پروبیوتیک یکی از مهم‌ترین مواد جهت بهره‌مندی مناسب از غذا می‌باشد. کمبود رژیم غذایی فقط به ترکیبات غذایی و متعادل‌سازی مواد مغذی وابسته نیست، بلکه به استفاده درست از مواد غذایی بستگی دارد (Manuch و همکاران، ۲۰۱۳). آنزیم‌های گوارشی نقش مهمی جهت کاتالیز واکنش‌های هیدرولیتیکی و تبدیل ماکرومولکول‌ها به ذرات کوچک‌تر قابل جذب بر عهده دارند (Davis و همکاران، ۱۹۹۳). مهم‌ترین عامل در بهبود قابلیت هضم، تولید آنزیم‌های گوارشی می‌باشد که پروبیوتیک‌ها نقش مهمی را در بهبود آن بر عهده دارند (Paiva-maia و همکاران، ۲۰۱۳). محققین نشان دادند که دستگاه گوارش میگو دارای تمام باکتری‌ها به‌منظور هضم کامل ماده خشک نیست، استفاده از پروبیوتیک‌ها باعث افزایش آنزیم‌های گوارشی می‌شود. از آنزیم‌های گوارشی مهم می‌توان به آنزیم پروتئاز اشاره کرد که نقش کلیدی در هضم پروتئین بازی می‌کند (Dabrowski و همکاران، ۱۹۸۴). در مزارع پرورش میگو وانامی (*Litopeneaus vannamei*) استفاده از پروبیوتیک تجاری تاثیر مفید خود را از طریق بهبود رشد و حفظ کیفیت آب در شرایط اپتیمم نشان داده است (Wang و همکاران، ۲۰۰۶). این میکروارگانیسم‌ها از طریق مصرف غذاهای خورده نشده در استخر باعث تولید پروتئین می‌شوند. این پروتئین باکتریایی می‌تواند اشتها را تحریک کرده و سبب بهبود رشد از طریق تولید ویتامین گردد (Smith و همکاران، ۲۰۰۷؛ Iranto و Austin، ۲۰۰۲). با توجه به این‌که استفاده از پروبیوتیک توانسته است در صنعت دام و طیور تحول عظیم ایجاد کند آگاهی از ضریب تبدیل غذایی میگو و مقدار مواد مورد نیاز جهت رشد استاندارد می‌تواند اطلاعات زیادی در اختیار پرورش‌دهندگان قرار دهد. میگوی وانامی یکی از گونه‌هایی است که به‌دلیل رشد سریع، بازماندگی بالا و تحمل تراکم پذیری توانسته بسیاری از مزارع پرورش را در اختیار داشته باشد (kongnum و Hongpattarakere، ۲۰۱۲؛ Williams و همکاران، ۱۹۹۶). لذا با توجه به مطالب گفته شده، این مطالعه با هدف بررسی تاثیر باکتری‌های پروبیوتیکی *B. subtilis* و *B. licheniformis* بر تراکم و قابلیت هضم میگوی وانامی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

پروبیوتیک استفاده شده در این مطالعه حاوی اسپورهای دو گونه از باکتری‌های *B. subtilis* و *B. licheniformis* می‌باشد. این پروبیوتیک حاوی 10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم می‌باشد. این محصول به‌صورت پودر خشک توسط شرکت

سازنده (پروتکسین آکواتک) عرضه می‌شود. روش فعال‌سازی براساس شیوه توصیه شده این شرکت صوررت گرفت. بر این اساس، جهت ایجاد شوک حرارتی، آب را تا نزدیک نقطه جوش حرارت داده، پس از جوش آمدن ظرف را از روی آتش برداشته و پروبیوتیک را به آن اضافه کرده و پس از سرد شدن، آب حاوی پروبیوتیک با غذای کنسانتره مخلوط و مورد استفاده قرار گرفت.

در این مقاله از اکسید کروم (Y_2O_3) به‌عنوان نشانگر با غلظت ۰/۰۳ استفاده گردید. در جدول ۱ تجزیه تقریبی ترکیبات شیمیایی غذای کنسانتره مورد استفاده آورده شده است.

جدول ۱: تجزیه تقریبی غذای تجاری میگوی وانامی برحسب درصد ماده خشک

نوع ترکیب	درصد اجزای مغذی جیره
پروتئین خام	۳۹/۶۶
چربی خام	۷/۳۹
خاکستر	۷/۵۹
ماده خشک	۲
عصاری عاری از ازت	۳۳/۵۹
اکسید کروم	۰/۰۳
انرژی ناخالص	۱۷/۹۶

شرایط نگهداری میگو: مطالعه حاضر که در کارگاه آموزشی تکثیر گمیشان بر پست لارو مرحله ۱۲ وانامی (وزن تقریبی ۰/۲۹گرم) در ۱۸ مخزن ۲۰۰ لیتری انجام پذیرفت. این آزمایش شامل شش تیمار با سه تکرار بود. تیمار T_1 شامل میگوهایی با تراکم ۳۰۰ قطعه در مترمربع و غلظت پروبیوتیک 1×10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا، T_2 تراکم ۳۰۰ قطعه در مترمربع و غلظت پروبیوتیک 4×10^{10} واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم غذا، T_3 تراکم ۲۵۰ قطعه در مترمربع و غلظت پروبیوتیک 1×10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا و T_4 تراکم ۲۵۰ قطعه در مترمربع و غلظت پروبیوتیک 4×10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم غذا به‌همراه دو تیمار شاهد C_1 با تراکم ۳۰۰ قطعه میگو در مترمربع و C_2 با تراکم ۲۵۰ قطعه میگو در مترمربع بودند که به‌مدت هشت هفته از تیر تا شهریور با میانگین دمایی ۲۸ درجه سانتی‌گراد، شوری ۳۲ گرم در لیتر، و اکسیژن محلول ۹/۸ میلی‌گرم در لیتر ذخیره‌سازی شدند.

جمع‌آوری مدفوع میگو: به‌منظور ترکیب نشدن غذای خورده نشده با مدفوع، عمل جمع‌آوری غذای خورده نشده یک ساعت بعد از تغذیه میگو صورت گرفت. در فاصله زمانی ۲-۳ ساعت بعد از تغذیه میگو با غذای کنسانتره عمل جمع‌آوری مدفوع در سه نوبت صورت می‌گرفت. مدفوع از طریق لوله مخصوص هواده از طریق ایجاد مکش جمع‌آوری و پس از آبگیری در معرض خورشید، به‌مدت ۱۰ دقیقه در داخل ظروف مخصوص (ظروف نگاتیوی) بسته‌بندی شد. جهت جلوگیری از فساد و فعالیت باکتریایی، مدفوع میگو در فریزر در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره‌سازی شد.

جهت بررسی میزان رطوبت، مدفوع میگو پس از توزین در آون با دمای ۶۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. اختلاف وزن قبل از خشک کردن و بعد از آن به‌عنوان رطوبت مدفوع گزارش شد. به‌منظور برآورد میزان چربی مدفوع از دستگاه سوکسله مدل VAPAO ساخت شرکت Gerharolt، میزان پروتئین با استفاده از دستگاه کجدال، مدل EBL استفاده شد. جهت تقطیر از دستگاه مدل VAP ساخت شرکت Gerharolt آلمان و آمینواسید از دستگاه آنالیزکننده آمینواسید مدلA200 ساخت شرکت کناور آلمان استفاده گردید (Heizhao و همکاران، ۲۰۰۴). جهت بررسی قابلیت هضم مواد مغذی توسط میگوی وانامی و ماده خشک از فرمول زیر استفاده شد (Heizhao و همکاران، ۲۰۰۴):

فرمول شماره یک: قابلیت هضم مواد مغذی

$$\left[\left(\frac{\text{مواد مغذی موجود در غذا}}{\text{مواد مغذی موجود در مدفوع}}\right)\times\left(\frac{\text{اکسید کروم موجود در مدفوع}}{\text{اکسید کروم موجود در غذا}}\right)\right]\times 100$$

فرمول شماره دو: قابلیت هضم ماده خشک

$$\left[\left(\frac{\text{اکسید کروم موجود در مدفوع}}{\text{اکسید کروم موجود در غذا}}\right)\times 100\right]-100$$

آنالیز آماری: این مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به‌اجرا درآمد. مقایسه میانگین داده‌های حاصله به‌وسیله آزمون واریانس دوطرفه (TOW WAY ANOVA) صورت گرفت. اختلاف بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان ۹۵ درصد تعیین گردید. تمام موارد با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام گرفت.

نتایج

قابلیت هضم اسیدهای آمینه: مقادیر مربوط به قابلیت هضم آمینواسید در جدول ۲ آمده است. مطابق این نتایج تیمارهای T_1, T_3 و T_2, T_4 اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$) از

لحاظ مقدار آمینواسید از خود نشان دادند. با توجه به بررسی صورت گرفته بیش‌ترین مقدار مربوط به دو تیمار T_4, T_2 و کم‌ترین مقدار به تیمارهای T_1, T_3 بود. ضمناً ارتباط معنی‌داری بین تیمار شاهد و پروبیوتیکی (T_1، T_2، T_3 و T_4) دیده نشد ($P>0/05$). در مورد تاثیر تراکم در این تیمارها بین گروه‌هایی که دارای تراکم متفاوت و غلظت پروبیوتیک یکسان بودند، هیچ گونه اختلاف معنی‌داری به‌دست نیامد و تراکم نتوانست تاثیر قابل توجه‌ای در قابلیت هضم اسیدآمینه داشته و تاثیر پروبیوتیک بر قابلیت هضم آمینواسید کاملاً معنی‌دار نبود ($p>0/05$).

جدول ۲: مقدار قابلیت هضم آمینواسید ضروری و غیرضروری در تیمارهای مختلف

آمینواسیدها	T_1	T_2	T_3	T_4	C_1	C_2
ترئونین	۸۵/۲±۰/۱[a]	۸۷/۷ ± ۰/۱۵[b]	۸۶± ۰/۱۵[a]	۸۹/۴±۰/۱۲ [b]	۸۰/۴±۰/۱۸[c]	۷۹/۴۳± ۰/۱۷ [c]
والین	۸۱/۳±۰/۳۶[a]	۸۶± ۰/۲۹[b]	۸۲± ۰/۳۶ [a]	۸۸/۵±۰/ ۱۵ [b]	۷۹±۰/۳۶ [c]	۷۹/۷±۰/۳۵ [c]
متیونین	۸۰/۱±۰/۳۱ [a]	۸۴/۷±۰/۳۷ [b]	۸۱/۴± ۰/۳۱ [a]	۸۵/۶±۰/۳۷ [b]	۷۷/۷±۰/۶۱ [c]	۷۶/۷±۰/۴۱[c]
لوسین	۸۲/۴±۰/۶[a]	۸۶/۸۶±۰/۳۶ [b]	۸۲/۹±۰/۳۷ [a]	۸۷/۶±۰/۲۶ [b]	۷۸/۳±۰/۷۶ [c]	۷۸/۹±۰/ ۶[c]
فنیل آلانین	۸۲/۷±۰/۹ [a]	۸۵/۲±۰/۴۱ [b]	۸۲/۹±۰/۹۱ [a]	۸۶/۲±۰/۴۱ [b]	۷۸/۴±۰/۴۶ [c]	۷۸/۶±۰/۶۶ [c]
هستیدین	۸۵/۳±۰/۲۶ [a]	۸,۸۹±۰/۳۵ [b]	۸۵/۸±۰/۳ [a]	۸۹/۸±۰/۶ [b]	۸۱/۹±۰/۸۸ [c]	۸۲/۵±۰/۵۵ [c]
آرژنین	۸۹/۴±۰/۶۶ [a]	۹۳/۴± ۰/۲[b]	۸۹/۵±۰/۵ [a]	۹۴/۸±۰/۱۶ [b]	۸۴/۴ ±۰/۶۳[c]	۸۴/۸±۰/۲۵ [c]
آسپارتیک اسید	۸۴/۵±۰/۷۱[a]	۸۹/۳±۰/۱۱ [b]	۸۴/۸±۰/۳ [a]	۸۹/۴±۰/۱۱ [b]	۸۰/۳±۰/۵ [c]	۷۹/۶±۰/۲۵ [c]
سرین	۸۱/۹±۰/۶۲ [a]	۸۴/۴±۰/۷۴ [b]	۸۲/۴±۰/۵۶ [a]	۸۶/۳±۰/۱۹ [b]	۷۷/۷±۰/۴۷ [c]	۷۷/۴±۰/۱۲ [c]
گلوتامیک اسید	۸۶/۳±۰/۶۵ [a]	۸۸/۲±۰/۲۲ [b]	۹۲/۹±۰/۸ [a]	۹۳/۳±۰/۷۸ [b]	۸۲/۴±۰/۴۸ [c]	۸۲/۹±۰/۵ [c]
پرولین	۸۳/۷±۰/۱۲ [a]	۸۷/۲±۰/۳۶[a]	۸۵/۲±۰/۴۳ [a]	۸۹/۴± ۰/۱۸ [b]	۷۳/۱±۰/۲۵ [c]	۷۹/۲۶±۰/۳۶ [c]
گلوسین	۸۱/۱±۰/۱۵ [a]	۸۴/۵±۰/۳۷[b]	۸۱/۲±۰/۲۴ [a]	۸۵/۲۳±۰/۸۶ [b]	۷۸/۳±۰/۷۲ [c]	۷۸/۳۴±۰/۸۲ [c]
آلانین	۸۳/۰۳±۰/۳ [a]	۸۴/۵±۰/۵[b]	۸۲/۱±۰/۱۵ [a]	۸۶/۲۶±۰/۱ [b]	۷۸±۰/۲۱ [c]	۷۸/۲۳±.۰/۲۲ [c]
سیستئین	۸۴/۷±۰/۶۵ [a]	۸۸/۶۳±۰/۶۴[b]	۸۴/۶±۰/۷۴ [a]	۸۶/۲±۰/۱۱ [b]	۷۸/۲± ۰/۶۲ [c]	۷۸/۵±۰/۲ [c]
تیروزین	۸۴/۵/±۰/۳۶ [a]	۸۹/۵±۰/۵ [b]	۸۵/۲±۰/۸۵ [a]	۹۰/۲±۰/۲۴ [b]	۷۸/۴±۰/۳ [c]	۸۱/۲±۰/۶ [c]

(±میانگین با ۳ تکرار) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($P<0/05$)

ماده خشک: تاثیر سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس بر قابلیت هضم میگو وانامی در جدول ۳ ارائه شده است. تاثیر سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس بر ماده خشک دفع شده در مدفوع میگوی وانامی نشان می‌دهد، میزان ماده خشک مدفوع میگو با افزایش سطح این ماده در تیمارهای T_3 , T_1 و T_4 , T_2 نسبت به تیمارهای شاهد C_1 و C_2 ، به‌شکل معنی‌داری افزایش نیافت ($P>0/05$). این مسئله در مورد دو تیمار T_3 , T_1 و T_2,T_4 نیز به‌همین شکل بود و هیچ رابطه معنی‌داری بین آن‌ها نیز برقرار نشد ($P>0/05$).

جدول۳ : مقایسه میانگین ماده خشک، چربی، پروتئین و خاکستر قابلیت هضم نسبت به سطوح مختلف باسیلوس و تراکم متفاوت میگوی وانامی (*Litpenaeus vannamei*)

تیمارها	پروتئین %	خاکستر%	چربی %	ماده خشک%
T_1	۸۶/۸±۰/۳[a]	۵/۸±۰/۵ [a]	۹۵±۰/۲۷ [a]	۹۴/۴±۰/۴[a]
T_2	۸۹/۵±۰/۳[b]	۵۷±۰/۳[b]	۹۵/۵±۰/۶ [b]	۹۵±۰/۱۴[a]
T_3	۸۹/۸±۲[a]	۵۶±۰/۲ [a]	۹۶/۵±۰/۴ [a]	۹۴/۲±۰/۴[a]
T_4	۸۹/۲±۴/۰[b]	۵۶/۱±۰/۳[b]	۹۷/۹±۰/۱ [b]	۹۵/۶±۰/۱[a]
C_1	۶/۸۴±۱/۷[c]	۵۶/۵±۵/۰ [c]	۹۲/۴±۰/۶۴ [c]	۹۴/۴±۰/۴[a]
C_2	۸۴/۶±۰/۶[c]	۵۶/۷±۰/۲ [c]	۹۳/۶±۰/۶ [c]	۹۴/۱±۰/۳[a]

(±میانگین با ۳ تکرار) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($P<0/05$)

خاکستر: عدم استفاده از پروبیوتیک سبب شد که گروه شاهد C_1 و C_2 از لحاظ قابلیت هضم خاکستر، کم‌ترین مقدار و گروه T_2 و T_4 بیش‌ترین مقدار را داشته باشند، بنابراین این برتری سبب ایجاد بیش‌ترین اختلاف بین این دو تیمار شد ($p<۰/۰۵$). بین گروه T_1 و T_3 با تیمار C_1 و C_2 برخلاف نتایج به‌دست آمده در ماده خشک لاشه بین این دو گروه نیز اختلاف معنی‌داری برقرار گردید ($p<۰/۰۵$). با توجه به افزایشی که تیمار T_2 و T_4 نسبت به T_1 و T_3 داشت، سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار در میزان خاکستر دو تیمار گردید. بنابراین غلظت بالای پروبیوتیک توانست تاثیر قابل توجه بر میزان قابلیت هضم خاکستر میگو داشته باشد.

پروتئین: نتایج تاثیر سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوس (*B. subtilis ,B. lichniformis*) به‌عنوان مکمل غذایی بر قابلیت هضم پروتئین در جدول ۳ نشان داده شده است. همان‌طوری‌که در جدول ۳ دیده می‌شود افزایش سطوح مختلف پروبیوتیک سبب افزایش قابلیت هضم در تیمارهای T_2 و T_4 نسبت به تیمارهای T_3و T_1 شد ($P<۰/۰۵$) و هر دو تیمار نسبت تیمار شاهد از لحاظ قابلیت هضم پروتئین نتایج بهتری را نشان دادند ($P<۰/۰۵$). با افزایش غلظت پروبیوتیک در تیمارهای مختلف میزان قابلیت هضم پروتئین نیز افزایش یافت.

قابلیت هضم چربی: مقادیر مختلف غلظت‌های پروبیوتیک و تراکم بر قابلیت هضم چربی میگو بررسی شد. نتایج متفاوتی بین گروه شاهد و گروه‌های تیمار شده با پروبیوتیک به‌دست آمد. در این قسمت بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار T_4 و T_2، که نسبت به گروه‌های تغذیه شده با 10^{10} واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم مثل T_1 و T_3 مقدار بیش‌تری را نشان داد. که بین این دو، تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). در تیمارهای شاهد C_1 و C_2 یک کاهش را از لحاظ قابلیت هضم چربی نسبت به تیمارهای آزمایشی T_4 ، T_2 و T_1، T_3 از خودشان نشان دادند و اختلاف معنی‌داری بین این گروه‌ها برقرار شد ($p<۰/۰۵$) که بیش‌ترین اختلاف بین تیمارهای T_4 و T_2 بود.

تراکم: بین گروه‌هایی که دارای غلظت پروبیوتیک یکسان و تراکم متفاوت میگو ازجمله T_1،T_3و T_4، T_2 و تیمار شاهد C_1 و C_2 بودند از لحاظ قابلیت هضم اختلاف معنی‌داری با هم نشان ندادند ($P>۰/۰۵$). بررسی انجام گرفته روی گروه‌های مختلف نشان داد که تیمارهای شاهد C_1 و C_2 دارای کم‌ترین قابلیت هضم و T_2، T_4 دارای بیش‌ترین مقدار بودند. این مسئله تاثیر مثبت پروبیوتیک را بر قابلیت هضم نسبت به شاهد نشان داد ($p<۰/۰۵$) که سبب شد، بین تیمارهای T_1، T_3 و T_2، T_4 رابطه مثبتی وجود داشته باشد ($P>۰/۰۵$). با توجه به نتایج، بین تمام گروه‌هایی که غلظت‌های متفاوت پروبیوتیک دریافت کرده بودند با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$).

بحث

ایده استفاده از مکمل‌های غذایی میکروبی به‌منظور بهبود فلور میکروبی روده و نقش بالقوه آن در افزایش آن‌ها بهره‌بری از غذا در طی سال‌های توجه قرار گرفته است. باتوجه به بررسی‌های انجام شده در تمام گروه‌ها تیمارهای پروبیوتیک دارای افزایش صعودی از لحاظ قابلیت هضم اسیدآمینه بودند و توانستند تاثیر قابل توجه بر قابلیت هضم داشته و اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد ایجاد کنند. که این سیر صعودی در تیمارهای T_2 و T_4 نسبت به تیمارهای T_1،T_3 بیش‌تر و توانست تاثیر مفیدتری به بر قابلیت هضم اسیدآمینه داشته باشند. نتایج فوق نشان‌دهنده تاثیر مثبت پروبیوتیک در قابلیت هضم می‌باشد. مطابق نتایج به‌دست آمده از جدول ۳ تیمارهای T_2 ، T_4و T_1، T_3 نسبت به گروه شاهد به‌جز در قابلیت هضم ماده خشک در تمام تیمارهای دیگر از جمله، قابلیت هضم پروتئین، چربی و خاکستر تاثیر مثبت نشان دادند. تراکم در هیچ‌یک از موارد نتوانست تاثیر مثبتی داشته باشد و در تمام تیمارهای تراکم متفاوت و غلظت پروبیوتیک یکسان اختلاف معنی‌داری مشاهد نشد ($p>۰/۰۵$). بنابراین براساس یافته‌های به‌دست آمده در این تحقیق می‌توان خاطر نشان ساخت که تراکم در میگو نمی‌تواند تاثیر بر قابلیت هضم و افزایش جذب مواد مغذی تاثیر مهمی داشته باشد (McIntash و همکاران، ۲۰۰۰). پروبیوتیک‌ها از طریق جمعیت میکروارگانیزم‌های مفید بر فرایندهای هضم تاثیر موثر می‌گذارند (Manuch و همکاران، ۲۰۰۴). باکتری‌های پروبیوتیکی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی سبب افزایش قابلیت هضم و استفاده بهتر از مواد مغذی می‌گردند (Bomba و همکاران، ۲۰۰۲). Ziaei-Nejad و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی که بر آنزیم‌های گوارشی انجام دادند دریافتند، که پروبیوتیک با افزایش فعالیت سه آنزیم گوارشی شاخص لیپاز، آمیلاز و پروتئاز و ترشح این آنزیم‌های بسته به محوطه لوله گوارش میگوها سبب افزایش قابلیت هضم و جذب غذا و در نتیجه افزایش کارائی تغذیه می‌شوند. محققین با بررسی که بر تاثیر پروبیوتیک در سیستم‌های مدار بسته انجام دادند از طریق پروبیوتیک ضریب تبدیل غذایی را کاهش داده و باعث افزایش رشد شدند (Smith و همکاران،

۲۰۰۷). باکتری‌های پروبیوتیکی دستگاه گوارش میگو از طریق افزایش ساخت و ترشح آنزیم‌های گوارشی در میزبان (Tovar و همکاران، ۲۰۰۲)، منجر به افزایش قابلیت هضم چربی‌ها و پروتئین‌های موجود در جیره غذایی شده و کارایی تغذیه و متعاقب آن، رشد را در ماهی میزبان به‌طور قابل توجه‌ای افزایش می‌دهند (De-schrijver و Ollevier، ۲۰۰۰).

دانشمندان از پروبیوتیک (*Pediococcus acidilactici*) به میزان 10^7 واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم در ماهی استفاده و آن را در معرض باکتری ویبریو قرار دادند، در تیمارهایی که از پروبیوتیک تغذیه شده بودند نسبت به گروه شاهد با ۴۵ درصد مرگ و میر، فقط ۲۰ درصد مرگ و میر خود نشان دادند (Castex و همکاران، ۲۰۱۰). دسترسی به پروبیوتیک ممکن است به‌علت نرخ پایین بازماندگی، ناآشنا بودن نژاد باکتری برای میزبان، دوز پایین کارایی، واکنش با داروها، سلامت و سن، استرس‌های محیطی و ژنتیک و اشکال گوناگون حیوان تغییر کند (Bomba و همکاران، ۲۰۰۲). اسیدهای چرب در غذای میگو بیش‌تر تحت تاثیر جمعیت باکتری‌های دستگاه گوارش قرار دارند (Ringo و Vadestin، ۱۹۹۸). میزان قابلیت هضم چربی، آمینواسید و دیگر ترکیبات مواد غذایی مقدار بیش‌تری نسبت به نتایج به‌دست آمده از تحقیق Liu و همکاران (۲۰۱۰) را به‌خود اختصاص داد. Zhou و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی *B. coagulans* بر میگوی وانامی از مرحله زوآ تا پست لارو ۸-۷ نشان دادند که استفاده از این پروبیوتیک در حد استاندارد می‌تواند تاثیر معنی‌داری بر شاخص رشد و فعالیت آنزیمی داشته باشد. دستگاه گوارش میگو در مرحله لارو و پست لارو تکمیل می‌شود. بنابراین پروبیوتیک می‌تواند از طریق افزایش آنزیم‌های گوارش بهترین تاثیر را داشته باشد (zhou و همکاران، ۲۰۰۸). به‌دلیل انجام ندادن تحقیق درخصوص نحوه عمل آنزیم‌ها نمی‌توان بر نحوه فعالیت ترکیبات آنزیم‌ها توصیفی داشت. علت افزایش قابلیت هضم در این مطالعه بیش‌تر تولید آنزیم‌های داخلی می‌باشد که به‌وسیله پروبیوتیک تولید می‌شود (Liu و همکاران، ۲۰۱۰؛ Ziaei-nejad و همکاران، ۲۰۰۶). علت افزایش بعضی از آمینواسیدها و پروتئین بیش‌تر به‌دلیل تولید آنزیم پروتئاز می‌باشد که می‌تواند تاثیر قابل توجه‌ای بر میزان آن داشته باشد (Lenaig و همکاران ، ۲۰۱۱). همان‌طوری‌که از نتایج این آزمایش مشخص شد، استفاده از پروبیوتیک توانست در سطوح مختلف تاثیر قابل توجه‌ای داشته باشد. مطابق نتایج محققین مهم‌ترین عامل، افزایش قابلیت هضم آنزیم‌های گوارشی می‌باشد که از طریق افزایش مقدار باکتری در داخل لوله گوارش میگو و بهره‌برداری از غذا سبب بالا رفتن قابلیت هضم و هدر رفتن مواد مغذی و خروج آن از طریق مدفوع می‌شود.

منابع

1. **Bomba, S.; Nemcoa, R.; Gancarc kova, S.; Herich, R.; Guba, P. and Mudronova, D., 2002.** Improvement of the probiotic e¡ectof micro-organisms by their combination with maltodex trins, fructo oligosaccharides and poly unsaturated fattyacids. British Journal of Nutrition. Vol. 88, No. 1, pp: 95-99.
2. **Carnevali, O.; Zamponi, M.C.; Sulpizo, P.; Rollo, A.; Nardi, M.; Orpianesi, C.; Silvi, S.; Caggiano, M.; Polzonetti, A.M. and Cresci, A., 2004.** Administration of probiotic strain to improve sea bream wellenssduring development. Agua. Int. Vol. 12, pp: 377-386.
3. **Castex, M.; Chim, L.; Pham, D.; Lemaire, P.; Wabete, N. and Nicolas, J.L., 2008.** Probiotics. Acidilactici application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject tovibriosis in New Caledonia. Aquaculture. Vol. 275, pp: 182-193.
4. **Dabrowski, K.; Meyer-Bugdorff, K.; Hanke, W. and Gunther, K.D., 1991.** The effect of large doses of vitamin C andmagnesium on stress responses in common carp, Cyprinus carpio. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 99A, pp: 681-685.
5. **Davis, D.A.; Lawrence, A.L. and Gatlin, D.M., 1993.** Evaluation of the dietary zinc requirement of *Penaeus vannamei* and effects of phytic acid on zinc and phosphorus bio-availability. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 2, pp: 40-47.
6. **DeSchrijver, R. and Ollevier, F., 2000.** Protein digestion in juve-nile turbot (*Scophthalmus maximus*) and effects of dietary administration of Vibrio proteolyticus. Aquaculture. Vol. 186, pp: 107-116.
7. **Gamboa-Delgado, J.; Molina-Poveda, C. and Cahu, C., 2003.** Digestive enzyme activity and food ingesta in juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) as a function of body weight. Aquac. Res. Vol. 34, pp: 1403-1411.
8. **Ghosh, k.; Sen, S.K. and Ray, A.K., 2004.** Growth and survival of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) spawn feed diets formented with intestine bacterium, *Bacillus circulans*. Acta. Ichthyo. Pistor. Vol. 34, No. 2, pp: 155-165.
9. **Gomez-Gil, B.; Tron-Mayen, L.; Roque, A.; Turnbull, J.F.; Inglis, V. and Guerra-Flores, A.L., 1998.** Species of vibrio isolated from hepatopancreas, haemolymph and digestive tract of a population of healthy juvenile *Penaeus vannamei*. Aquaculture. Vol. 163, pp: 1-9.
10. **Gomez-Gil, B.; Roque, A. and Turnbull, J.F., 2000.** The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. Aquaculture. Vol. 191, pp: 259-270.
11. **Heizhao, Z.L.; Zhixun, G.; Yingying, Y.; Wenhui, Z. and Zhuojia, J.L., 2004.** Effect of dietary probiotics on apparent digestibility coefficients of nutrients of white shrimp, Litopenaeus vannamei Boon. Aquacul Res. Vol. 35, pp: 1441-1447.
12. **Hossain, M.I.; Kamal, M.M.; Mannan, M.A.; Bhuyain, A.B. and Hossain, M.I., 2013.** Effects of Probiotics on

and retention of the probiotic properties of *Bacillus* sp. strains under marine stress starvation conditions and their potential use as a probiotic in Artemia culture. Research in Veterinary Science. Vol. 41, pp: 1-9.

25. **Manuch, S.M.; Srivastava, P.P.; Kohi, M.P.S.; Jain, K.K.; Ayyappan, S. and Metar, S.Y., 2013.** Combined Effect of Papain and Vitamin-C Levels on Growth Performance of Freshwater Giant Prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. 13, pp: 479-486.
26. **McIntash, D.; Samocha, T.M.; Jones, E.R.; Lawrence, A.L.; Mckee, D.A.; Horowitz, S. and Horowitz, A., 2000.** The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. Aquacultural Engineering. Vol. 2, pp: 215-227.
27. **Moe, Y. Y; Koshio, S; Teshima, S. I; I. Shikawa, M; Matsuang, Y and Jr panganib, A; 2004.** Effect of vitamin C derivatives on the performanceof larval kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicas*. Aquaculture. 242, 501-512.
28. **Moss, S.M.; Forster, I.P. and Tacon, G.J., 2006.** Sparing effect of pond water on vitamins in shrimp diets. Aquaculture. Vol. 258, pp: 388-395.
29. **Paiva-maia, D.E; Alves, M.G AND Brito, O.L; 2013.** Effect of a commercial probiotic on bacterial and phytoplankton concentration in intensive shrimp farming (*Litopenaeus vannamei*) recirculation systems. Aquat. Res. Vol. 41, No. 1, pp: 12-137.
30. **Rengpipat, S.; Rukpratanporn, S.; Piyatiratitivorakul, S. and Me-nasveta, P., 2000** Immunity enhancement in black tigershrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11). Aquaculture. Vol. 191, pp: 271-288.
31. **Ringo, E. and Vadestin, O., 1998.** Colonization of *Vibrio Pelagius* and *Aeromonas caviae* in early developing turbot, Scophthalmous maximus (L.) larvae. Journal of Applied Microbiology. Vol. 84, pp: 227- 233.
32. **Rock, C.L.; Jacob, R.A. and Rowen, P.E., 1996.** Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E and the carotenoids. Journal of the American Dietetic Association. Vol. 96, No. 7, pp: 693-702.
33. **Ross, S.W.; Dalton, D.A.; Kramer, S. and Christensen, B.L., 2001.** Physiological (antioxidant) responses of estuarine fishes to variability in dissolved oxygen. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 130C, pp: 289-303.
34. **Shariff, M.; Yusoff, F.M.; Devaraja, T.N. and Srinivasa Rao, S.P., 2001.** The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius), ponds. Aquac. Res. Vol. 32, pp: 181-187.
35. **Sloman, K.A.; Gilmour, K.M.; Taylor, A.C. and Metcalfe, N.B., 2000.** Physiological effects of dominance hierarchies within groups of brown trout, *Salmo trutta*, held under simulated natural conditions. Fish Physiol. Biochem. Vol. 22, pp: 11-20.
36. **Smith, L.L.; Lee, P.G.; Lawrence, A.L. and Strawn, K., 1985.** Growth and digestibility by three sizes *Penaeus vannamei* Boone: ejects of dietary protein level and protein source. Aquaculture. Vol. 4, pp: 85-96.
37. **Smith, D.M.; Tabrett, S.J.; Glencross, B.D.; Irvin, S.J. and Barclay, M.C., 2007.** Digestibility of lupin kernel meals in feeds for the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. Aquaculture. Vol. 264, pp: 353-362.

Growth and Survival of Shrimp (*Penaeus monodon*) in Coastal Pond at Khulna, Bangladesh. J.Science. Vol. 5, No. 2, pp: 363-370.

13. **Irianto, A. and Austin, B., 2002.** Use of probictics to controlfurunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases. Vol. 25, pp: 333-342.
14. **Jafaryan, H.; Takami, G.A.; Kamali, A.; Soltani, H. and Habibirezaei, M., 2007.** The use of probiotic bacillus bioencapsulated with *Artemia urmiana* nauplii for the growth and survival in Acipenser persicus larva. J. Agri. Sci. Natur. Res. Vol. 14, pp: 87-97.
15. **Kongnum, K. and Hongpattarakere, T., 2012.** Effect of Lactobacillus plantarum isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with Vibrio harveyi. Fish and Shellfish immunology. Vol. 32, pp: 170-177.
16. **Laiho, K.; Hoppu, U.; Ouwehand, A.C.; Salminen, S. and Isolauri, E., 2002.** Probiotics: on-going research on atopic indivi-duals. British Journal of Nutrition. Vol. 88, No. 1, pp: 19-27.
17. **Lara-Flores, M.; Olvera-Novoa, M.A.; Guzman-Mendez, B.E. and Lopez-Madrid, W., 2003.** Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and theyeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreo chromis niloticus*). Aquaculture. Vol. 216, pp: 193-201.
18. **Lenaig, R.; Surget, A.; Rigolet, V.; Kaushik, S.J. and Geurden, I., 2011.** Availability of essential amino acids, nutrient utilisation and growth in juvenile black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, following fishmeal replacement by plant protein.Aquaculture. Vol. 323, pp: 109-116.
19. **Liu, K.F.; Chiu, C.H.; Shiu, Y.L. and Cheng, W., 2010.** Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 28, pp: 837-844.
20. **Liu, K.F.; Chiu, C.H.; Shiu, Y.L.; Cheng, W. and Liu, C.H., 2010.** Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. Fish and shellfish immunology. Vol. 29, pp: 834-844.
21. **Lo Fiego, D.P.; Santoro, p.; Mazzoni, D.; Piattoni, F.; Tassone, F. and De Leoenibus, E., 2003.** The effect of dietary supplementation of vitamins C and E on the a-tocopherol content of muscles, liver and kidney, on the stability of lipids, and on certain meat quality parameters of the longissimus dorsi of rabbits. Meat science. Vol. 67, pp: 219-227.
22. **Lopes da Silva, T.; Alberto, R.; Christopher, A.K.; Maria, K.; Carlos, R.J. and Christopher, H.J., 2005.** Stress-induced physiological responses to starvation periods as wellas glucose and lactose pulses in *Bacillus licheniformis* CCMI 1034 continuousaerobic fermentation processes as measured by multi-parameter flow cytometry. Biochemical Engineering Journal. Vol. 24, pp: 31-41.
23. **Mahdhi, A.; Chaieb, K.; Kamoun, F. and Bakhrouf, A., 2010.** Use of *Pseudomonas stutzeri* and *Candida utilis* in the improvement of the conditions of Artemia culture and protection against pathogens. Brazilian Journal of Microbiology. Vol. 41, pp: 107-115.
24. **Mahdhi, A.; Esteban, M.A.; Hamila, Z.; Bekir, K.; Kamoun, F.; Bakhrouf, A. and krifi, B., 2012.** Survival

38. **Sookying, D.; D-Silva, F.S. and Hanson, T.R., 2011.** Effects of stocking density on the performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured under pond and outdoor tank conditions using a high soybean meal diet. Aquaculture. Vol. 319, pp: 232-239.

39. **Thomas, S.R.; Neuzil, J.; Mhor, D. Stocker, R., 1995.** Restoration of tocopherol by co-antioxidants makes a tocopherol an effective antioxidant for low density lipoproteins. American Journal of Clinical Nutrition. Vol. 62, pp: 1357-1364.

40. **Tocher, D.R.; Mourente, G.; Van Der Eecken, A.; Evjemo, J.O.; Díaz, E.; Bell, J.G.; Geurden, I.; Lavens, P. and Olsen, Y., 2002.** Effects of dietary vitamin E on antioxidant defence mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). Aquac. Nutr. Vol. 8, pp: 195-207.

41. **Terenzado, C.E.; La Higura, M.D. and Morales, A.E., 2007.** Nfluence of dietary vitamins E and C and HUFA on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance under crowding conditions. Aquaculture. Vol. 263, pp: 249-258.

42. **Trenzado, C.E.; Morales, A.E. and De La Higuera, M., 2006.** Physiological effects of crowding in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, selected for low and high stress responsiveness. Aquaculture. Vol. 258, pp: 583-593.

43. **Wang, Y.B., 2007.** Effect of probiotics on growth performance and digestive enzymeactivity of the shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture. Vol. 269, pp: 259-264.

44. **Wang, Y.B. and Xu, Z.R., 2006.** Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) basedon growth performance and digestive enzyme activities. Anim. Feed Sci. Technol. Vol. 127, pp: 283-292.

45. **Wang, Z.; Mai, K.; Liufu, Z.; Ma, H.; Xu, W.; Ai, Q.; Zhang, W.; Tan, B. and Wang, X., 2006.** Effect of high dietary intakes of vitamin E andn-3 HUFA on immune responses and resistance to Edwarsiellatarda challenge in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*, Temminck and Schlegel). Aquac. Res. Vol. 37, pp: 681-69.

46. **Williams A.S.; Davis, D.A. and Arnold, C.R., 1996** Density-de-pendent growth and survival of Penaeus setiferus and *Penaeus vannamei* in a semi-closed recirculating system. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 27, pp: 107-112.

47. **Yanbo, W. and Zirong, X., 2006.** Effect of probiotic forcommom carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzymes activities. Anim. Feed. Sci. Technol. Vol. 127, pp: 283-292.

48. **Zhou, X.X.; Wng, Y.B. and Li, W.F., 2009.** Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. Aquaculture. Vol. 287, pp: 349-353.

49. **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 Fenneropenaeusindicus. Aquaculture. Vol. 252, pp: 516-524.