14(1) 487-496, Spring 2022

Journal of Animal Environment

(AEJ)

Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Production risk matrix for using water improvers in leeches breeding and determining future strategy

Mahsa Salehi* *, Gholamreza Rafiee

Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Key Words

Medical leech
Water improver
Increase production
Future planning

Abstract

Introduction: Leeches are very useful creatures, so they are used in the medical industry. The main problems of leeches breeding are high losses and water quality pollution. One of the effective ways to use water-improving probiotics is to improve water quality and reduce losses and increase survival and production.

Materials & Methods: This study was performed using two new probiotics (HC, SA) in an experiment with 10 treatments in leech glass containers.

Results: The results show that the concentration of both probiotics used in 7.5 cc per liter in treatment 9 was more suitable than other treatments, so the possibility of using this concentration of probiotics in leeches breeding was actually able to grow more. Also, using quantitative strategic planning matrix coefficient, the main influential factors in leech breeding industry in leech breeding parameters in not using probiotics number 10 and in experimental parameters using commercial probiotics number 16 which is very practical.

Conclusion: Finally, determining the future of leech breeding in Iran in order to meet domestic needs and exports and currency and competition in global markets is the use of new probiotic improvers that can be very important in increasing the survival and production of leeches.

* Corresponding Author's email: mahsa.salehi@ut.ac.ir

Received: 8 December 2020; Reviewed: 12 January 2021; Revised: 15 March 2021; Accepted: 13 April 2021

(DOI): 10.22034/AEJ.2021.273584.2467

مقاله پژوهشی

کاربرد بهبوددهنده‌های آب در افزایش تولید زالوی طبی و تعیین استراتژی‌های آینده

مهسا صالحی، غلامرضا رفیعی*

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

کلمات کلیدی

زالوی طبی
بهبود دهنده آب
افزایش تولید
برنامه‌ریزی آینده

چکیده

مقدمه: زالوها موجودات بسیار مفیدی هستند به همین جهت آن‌ها را در صنعت پزشکی مورد استفاده قرار می‌دهند. مشکلات اصلی پرورش زالو، تلفات زیاد و آلودگی کیفی آب است. یکی از راه‌های موثر استفاده از پروبیوتیک بهبوددهنده آب منجر به بهبود کیفیت آب و کاهش تلفات و افزایش بازماندگی و تولید می‌شود.

مواد و روش‌ها: این تحقیق با استفاده از دو مواد پروبیوتیک ساخت جدید (HC ,SA) در آزمایشی با ۱۰ تیمار در ظروف شیشه‌ای زالو انجام شد.

نتایج: نتایج نشان می‌دهد که میزان غلظت هر دو پروبیوتیک مورد مصرف ۷/۵ سی‌سی در لیتر در تیمار ۹ دارای وضعیت مناسب‌تری نسبت به سایر تیمارها بود لذا امکان استفاده از این میزان غلظت پروبیوتیک در پرورش زالو عملاً توانسته رشد بیش‌تری داشته باشد. هم‌چنین، با استفاده از ضریب ماتریس برنامه‌ریزی استراتژیک کمی عوامل تاثیرگذار اصلی در صنعت پرورش زالو در پارامترهای پرورش زالو در عدم استفاده از پروبیوتیک عدد ۱۰ و در پارامترهای آزمایشی با استفاده از پروبیوتیک تجاری عدد ۱٦ به‌دست آمد که بسیار کاربردی است.

بحث و نتیجه‌گیری: درنهایت تعیین آینده پرورش زالو در ایران در جهت تامین نیاز داخلی و صادرات و ارزآوری و رقابت در بازارهای جهانی استفاده از مواد بهبوددهنده جدید پروبیوتیک است که می‌تواند در افزایش بازماندگی و تولید زالو بسیار با اهمیت باشد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mahsa.salehi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۸ آذر ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۲۳ دی ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۲۵ اسفند ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۲٤ فروردین ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.273584.2467

مقدمه

ابوعلی سینا یکی از دانشمندان بزرگ جهان اسلام، از پیشگامان طب سنتی است و در کتاب قانون وی به اهمیت زالو درمانی و استفاده از این شیوه برای درمان بسیاری از بیماری و دردها اشاره شده است. توسعه سریع پرورش زالو در ایران موجب شده است که ده‌ها مزرعه جدید برای نگه‌داری و پرورش زالو احداث و راه‌اندازی شود. بیماری ویروسی کووید-۱۹ عملاً توانسته است که بسیاری از فعالیت‌های مختلف را کند نماید، اما علاقه‌مندان به پرورش زالو هم‌چنان به فعالیت‌های خود ادامه می‌دهند. فعالیت‌های زالو در کشورهای دیگر همانند ترکیه و فرانسه از قرن هجدهم میلادی آغاز شده است (۱). لذا بازارهای جدید موجب شده که کشورهای دیگری همانند مالزی و برخی کشورهای جنوب‌شرقی آسیا نیز به‌عنوان تولیدکننده به پرورش‌دهندگان بپیوندند. بیش از ۶۵۰ نوع از انواع زالوها که برخی در آب بعضی درخشکی زندگی می‌کنند در سراسر دنیا وجوددارد. در این بین تعداد محدودی برای مصارف درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند که تعداد آن‌ها در حدود ۵۰ نوع است. امادرایران ۳ گونه مهم ازانواع نژاد زالوطبی وجود دارد. نام‌های علمی این زالوها به‌ترتیب هیرودو اورینتالیس، هیرودو مدیسینالیس و هیرودووربانا می‌باشد. شاید گونه‌های دیگری نیز وجود دارند اما تعداد و نقاطی که گونه‌های دیگر در ایران زندگی می‌کنند شاید به انگشتان دو دست هم نرسد. این جاندار در گونه‌های طبی ایرانی با بیش از ۱۰۰ نوع آنزیم پروتئینی قابلیت درمان بیماری‌های مختلفی را دارا می‌باشد. در تاریخ پزشکی اروپا، زالو درمانی زمانی برای همه بیماری ها موثر تلقی می‌شد. در طی قرن‌های ۱۷ و ۱۸، استفاده از زالو درمانی مکش خون به اوج خود رسید و از زالو در درمان بیماری‌های کبدی و کلیوی، روماتیسم، سل و غیره استفاده شد. در دهه ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰، با پیشرفت سریع مدرن دارو و بیوتکنولوژی، تعداد زیادی از مواد فعال با اثرات ضدانعقادی، ضد ترومبوتیک، ضدالتهاب و خونریزی در زالو یافت شد. در سال ۲۰۰۴، زالوها توسط FDA به‌عنوان وسیله درمانی برای درمان کمکی در جراحی پلاستیک و... مورد تأیید قرار گرفتند (۲). یکی از مهم‌ترین موضوعات اصلی پرورش زالو کیفیت آب می‌باشد. درصورتی‌که آب کیفیت لازم را نداشته‌باشد، قطعاًزالو بامشکلات و بیماری‌و تلفات روبرو می‌گردد. توسعه پایدار پرورش زالو نیازمند به‌کارگیری تکنیک‌های نوین می‌باشد. استفاده از باکتری‌های مفید با اهدافی نظیر بهینه‌سازی فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب مورد استفاده در محیط پرورشی زالو، مصرف بهینه و افزایش کارآیی بهره‌برداری‌از آب و هم‌چنین ارتقا عملکرد رشد زالو، صورت می‌گیرد. توسعه سیستم‌های پرورشی زالو، می‌تواند نقش بسیار مهمی را در ارتقاء تولید زالو در کشور داشته باشد (۳). کلنی از پروبیوتیک‌ها از طریق خوراک تاثیرات مستقیم و انواع دیگر آن‌ها از طریق محیط آب تاثیرات غیرمستقیم بر روی گونه زالو مورد نظر دارند. پروبیوتیک‌های آب باعث بهبود کیفیت آب که درنهایت منجر به افزایش رشد و بازماندگی گونه مورد نظر زالو دارد. در حال حاضر، پروبیوتیک‌ها و مکمل‌های آن‌ها به یک کانون تحقیقاتی جهانی تبدیل شده‌اند و بسیاری از محصولات پروبیوتیک در زمینه‌های صنایع غذایی، دارویی، لبنیات و تخمیر ظاهر شده‌اند، جایی که به‌طورکلی مورد استقبال مصرف‌کنندگان قرار می‌گیرد (۴). پروبیوتیک‌ها برای کنترل بیماری‌های باکتریایی مانند ویبریوز به‌خوبی مطرح شده‌است، اما برای بیماری‌های ویروسی، سویه‌های معتبر هنوز به تحقیقات زیادی نیاز است. با کشف فرمولاسیون‌های جدید یا بهتر و افزایش مزایای پروبیوتیک ممکن است برای پرورش به‌خصوص در زالو مفید باشد. مشکلات مربوط به بیماری‌ها و اغلب تغییرات شدید پارامترهای فیزیکوشیمیایی محیطی، منجر به خسارات جدی اقتصادی در مزارع زالو می‌شود (۵). در دهه‌های ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰ آنتی‌بیوتیک‌ها معمولاً در کنترل بیماری‌ها استفاده می‌شدند. با این‌حال، Palm و همکاران، استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده برای درمان بیماری‌های عفونی که منجر به فشار انتخابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌شود، خاصیتی که ممکن است به باکتری‌های دیگر منتقل شود و به‌طور غیرمستقیم تأثیرات منفی بر روی انسان بگذارد (۶). براساس این واقعیت، اتحادیه اروپا در سال ۲۰۰۳ استفاده از آنتی‌بیوتیک در تولید زالو را ممنوع کرده است (۷). از یک‌سو، استفاده بی‌رویه از مواد شیمیایی در کشاورزی و پساب‌های صنعتی و محیط پیرامون تاثیر می‌گذارد. به‌همین دلیل بیورمدیشن پتانسیل فوق‌العاده‌ای برای کاهش آلودگی، سمیت و تنش‌های غیرزیستی موجود در اکوسیستم‌های آبی است که به‌روشی پایدار و سازگار با محیط زیست بوده و موجب افزایش بهره‌وری اکوسیستم‌های آبی می‌گردد. از سوی دیگر استراتژی‌های تعیین شده در بیورمدیشن موجب سازگاری با مسائل زیست‌محیطی و مزیت نسبی قابل توجهی در به حداقل رساندن مصرف آب، بازیافت مواد آلی و بهبود امنیت زیستی و افزایش بهره‌وری اکوسیستم می‌شود (۸).

پروبیوتیک‌ها: سازمان بهداشت جهانی (WHO) پروبیوتیک‌ها را به‌عنوان میکروارگانیسم‌های زنده تعریف می‌کند که وقتی در مقدار مناسب و کافی استفاده شود، تاثیرات سودمندی بر میزبان دارند. پروبیوتیک‌ها به‌طورکلی شامل باکتری‌ها، سیانوباکتری‌ها، قارچ‌ها و غیره هستند. با توجه به عملکرد مفید آن‌ها میکروبیوتای نرمال یا میکروبیوتای موثر گفته می‌شود. در ادبیات، پروبیوتیک‌ها به‌طورکلی باکتری نامیده می‌شوند، که می‌تواند کیفیت آب محیط پرورش زالو را بهبودبخشد و هم‌چنین باعث مهار عوامل بیماری‌زا در آب و در نتیجه تولید در واحد سطح را افزایش دهد.

اهمیت پروبیوتیک‌ها در آبزی‌پروری: پروبیوتیک‌ها با اهداف مختلفی مورد استفاده قرار می‌گیرند. پرورش‌دهنده بعد از تعیین هدف، نوع پروبیوتیک خود را انتخاب و مصرف می‌نماید. در ابتدا پروبیوتیک‌های معرفی شده برای آبزیان دارای یک گونه باکتری بود. سپس محققین با بررسی بیش‌تر عملکرد پروبیوتیک‌ها به این نتیجه رسیدند که هر گونه باکتری یا مخمر که به‌عنوان پروبیوتیک مورد استفاده قرار می‌گیرد همان‌طور که دارای نقاط قوت مختلفی است می‌تواند دارای نقاط ضعفی هم باشد. لذا به‌منظور پوشاندن نقاط ضعف آن‌ها ترکیبی از گونه‌های باکتریایی و مخمری که باهم سازگار بودند به صنعت معرفی نمودند. بااین‌حال هم‌چنان محصولات پروبیوتیک تجاری وجود دارد که تک گونه‌ای و تخصصی هستند به این معنی که با هدف خاصی استفاده شده و اثرات آن‌ها وسیع‌الطیف نیست. در سال‌های اخیر بهبود کیفیت آب به‌خصوص با استفاده از گونه‌های باسیلوس بررسی شده است. باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی تبدیل کننده‌های خوب مواد آلی به Co2 محسوب می‌شوند. در طی روند تولید، مقادیر بالای باکتری‌های گرم مثبت می‌تواند تشکیل کربن آلی محلول و ذره‌ای را به حداقل برسانند. مطالعات نشان می‌دهدکه استفاده از گونه‌های باسیلوس کیفیت آب را بهبود بخشیده است (۹). طبق ارزیابی کمیته تخصصی سازمان خواروبار و کشاورزی ملل متحد و سازمان بهداشت جهانی (FAO/WHO) پروبیوتیک‌ها عمدتاً دارای عملکردهای فیزیولوژیکی مانند بهبود عملکرد رشد و تغذیه، تنظیم اختلالات دستگاه گوارش و مهار چسبندگی، حفظ تعادل میکروارگانیسم‌های ریز محیط روده، اتصال به موکوس روده‌ای و تولید ترکیبات مفید، افزایش عملکرد ایمنی روده؛ کنترل واکنش‌های آلرژیک؛ تأثیر بر تکثیر سلول‌های سرطانی، کاهش علائم افسردگی و غیره... می‌باشند (۱۰). به‌طور متوسط میانگین بازماندگی در زمان برداشت برای زالو بسیار کم است و انتظار می‌رود که استفاده از دوز صحیح پروبیوتیک مناسب این میزان را به درصد بیش‌تری برساند. با افزایش بازماندگی، شاهد افزایش محصول در هر مخازن خواهیم بود. با توجه به این‌که تراکم با میانگین وزنی برداشت رابطه معکوس داشته و هرچه میزان تراکم بالاتر می‌رود میانگین وزنی کاهش می‌یابد (۱۱).

دلایل تلفات زالو در حین پرورش: دلایل متعددی در تلفات زالو در حین پرورش تاثیر گذارند عبارتند از: کاهش کیفیت آب و افزایش میزان آمونیاک، اختلافات درجه حرارت آب و محیط و درنتیجه استرس حرارتی، عدم کنترل مداوم کیفیت آب، عدم رعایت بهداشت و سایر موارد.

کاربرد پروبیوتیک در زالو: درصورت استفاده از پروبیوتیک نامناسب و یا حتی استفاده از پروبیوتیک مناسب اما با دوز کم‌تر از دوز موثر، هیچ‌یک از انتظارات مد نظر از پروبیوتیک بروز نمی‌نماید بنابراین استفاده از دوز مناسب و ایجاد شرایطی در حوضچه‌ها که پروبیوتیک بتواند تکثیر و فعالیت نماید بسیار مهم می‌باشد. استفاده از پروبیوتیک‌ها در زالو بیش‌تر بر روی بهبود کیفیت آب، عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های هضمی و تقویت سیستم ایمنی متمرکز شده است (۱۲).

پروبیوتیک‌های مورد بررسی: در این پژوهش از پروبیوتیک تجاری ساخته شده در شرکت میکروبی-اکت، ایالت تگزاس آمریکا تحت پوشش مرکز تحقیقات بیولوژیک دانشگاه کلمبیا با نام مستعار، محصول اس‌ای (SA)، اچ‌سی (HC) جهت بهبود کیفیت آب استفاده شده است (جدول ۱). پروبیوتیک تجاری HC با نام مستعار تجاری HC جهت پاک‌سازی آب و از بین بردن آمونیاک و ترکیبات نیتریت و نیترات حاصل از بقایای غذای مصرف نشده و مدفوع و ضایعات در مخازن پرورش زالو مورد استفاده قرار می‌گیرد. پروبیوتیک تجاری SA این محصول پروبیوتیک تجاری تحت عنوان SA جهت از بین بردن لجن‌های باقی‌مانده ته مخازن پرورش که می‌تواند حاصل ضایعات تجمع یافته در کف مخازن پرورشی باشد.

سویه‌های غالب پروبیوتیک: پروبیوتیک تجاری دارای انواع باکتری‌های مثبت و سویه‌های غالب کلنی باکتری می‌باشد که در جدول ۱ شرح داده شده است. لازم به ذکر است فناوری جدید این محصول توانایی نگه‌داری انواع باکتری‌های مختلف با یکدیگر در یک محیط کشت را دارد که به‌عنوان نوآوری جدید محسوب می‌شود.

جدول ۱: سویه‌های غالب پروبیوتیک در هر دو محصول HC و SA

	باسیلوس(باکتری‌های هتروتروف)
۲	کلستردیوم
۳	دسولفوویبریو (باکتری بی‌هوازی)
۴	متانومتیلووران
۵	پسودوموناس
۶	رودوپسودوموناس (باکتری‌های فتوسنتزکننده)
۷	وولینلا

با توجه به اهمیت پرورش زالو در ایران که می‌تواند تولید، اشتغال، صادرات و ارزآوری و بهبود اقتصادی مناطق محروم کشور و جلوگیری از مهاجرت را فراهم نماید جهت آینده‌نگری در زمینه رقابت بازارهای جهانی نیاز الزامی به استفاده از فناوری‌های نوین در پرورش زالو کشور می‌باشد. این تحقیق در ارتباط با به‌کارگیری مواد بهبود دهنده آب در مزارع پرورش زالو بوده که با استفاده از روش بیورمدیشن و تولیدات جدید جهانی این پژوهش در استان مازندران برای اولین بار در زمینه مواد پروبیوتیک (HC,SA) انجام می‌گردد تا بتوان به تاثیرات این مواد در افزایش تولید در واحد سطح و کاهش تلفات در مزارع زالو منجر گردد .

سنجش شاخص‌های کیفی آب: مباحث مربوط به فیزیکوشیمیایی آب شامل طراحی فرم اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب به‌طور روزانه می‌باشد. این موارد عبارتند از: شماره مخازن، میزان غذای مصرفی در روز، نوع و اندازه غذا، میزان ذخیره‌سازی لارو در مخزن، تعداد تلفات لارو به‌طور روزانه، درجه حرارت آب، اکسیژن محلول آب، pH، آمونیوم آب، ذرات معلق جامد، سختی آب می‌باشد. اندازه‌گیری توسط دستگاه‌های سیار در داخل مخزن انجام می‌گیرد و اطلاعات به‌دست آمده در فرم‌های طراحی شده ثبت می‌شود و در فرمت Excel ذخیره می‌گردد.

اهمیت آزمایش آب پرورش زالو: آب استخر زالو نقش اساسی در رشد و سلامت زالوها دارد زیرا کیفیت آب تاثیر مستقیمی بر سلامت آن‌ها دارد. در این‌جا دلایل بعضی از بیماری‌های زالو که بر اثر کیفیت نامناسب آب به‌وجود می‌آید اشاره می‌شود. در اثر آمونیاک بالا ممکن است سر و بادکش‌های زالوها تورم کند. میزان بالای نیترات و هم‌چنین تغییر دمای آب باعث می‌شود که در سر زالوها لبه‌های قرمز ظاهر گردد. بعضی مواقع پوست زالوها پوشش لزج سفید مانندی پیدا می‌کنند که این نشان‌دهنده بیماری قارچی است. نیتریت بالا باعث سفتی عضلات، در اثر عدم تعویض به‌موقع آب و آمونیاک بالا، آب بوی تعفن می‌گیرد. یکی دیگر از بیماری‌ها وقتی پوست زالوها حالت شل و آویزان و یا رنگ پریده شود دلیل آن می‌تواند بیماری باکتریایی باشد.

جدول ۲: وضعیت زیستی میکروبی در زالو

مشخصه	مقدار مطلوب
کلی فرم تام در آب ورودی	۱۰۰ میلی‌لیتر/ بیش‌ترین شمارش احتمالی باکتری ۱۰۰۰۰
گلی فرم در آب کجل تکثیر	۱۰۰ میلی‌لیتر/ بیش‌ترین شمارش احتمالی باکتری ۱۰۰
کلی فرم مدفوعی	در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب ورودی و محل تکثیر باید منفی باشد

طبق استاندارد وزارت جهادکشاورزی، سازمان دامپزشکی کشور پارامترهای آزمایش آب پرورش زالو

کیفیت آب استخر زالو: طبق استاندارد وزارت جهادکشاورزی، سازمان دامپزشکی کشور پارامترهای آزمایش آب پرورش زالو مطابق جدول زیر می‌باشد.

جدول ۳: پارامترهای آب پرورش زالو

ردیف	عنوان آزمایش	نماد	واحد	محدوده مناسب
۱	کلی‌فرم گوارشی	FC	۱۰۰ سی‌سی/بیش‌ترین شمارش احتمالی باکتری ۱۰۰۰۰	کم‌تر از ۱۰۰
۲	کل کلی‌فرم	TC	۱۰۰ سی‌سی/بیش‌ترین شمارس احتمالی باکتری ۱۰۰۰۰	کم‌تر از ۱
۳	دی‌اکسیدکربن	CO2	میلی‌گرم/ لیتر	کم‌تر از ۰/۰۵
۴	پی‌اچ	pH	-	۷
۵	سختی آب	TH	میلی‌گرم/ لیتر کربنات کلسیم	بین ۱۰۰ تا ۴۰۰
۶	کلسیم	CA^{2+}	میلی‌گرم/ لیتر کربنات کلسیم	بین ۳۰ تا ۱۴۰
۷	منیزم	MG^{2+}	میلی‌گرم/ لیتر کربنات کلسیم	بیش‌تر از ۲۰
۸	نیتریت	NO^{2-}	میلی‌گرم/ لیتر دی‌اکسید نیتروژن	کم‌تر از ۰/۰۵
۹	آمونیاک	NH^{4+}	میلی‌گرم/ لیتر آمونیم	کم‌تر از ۲
۱۰	فسفات	$PO4^{3-}$	میلی‌گرم/ لیتر فسفات	کم‌تر از ۱
۱۱	سولفات	$SO4^{2-}$	میلی‌گرم/ لیتر سولفات	کم‌تر از ۵۰۰
۱۲	سولفید	S^{2-}	میلی‌گرم/ لیتر سولفید	کم‌تر از ۲

محدوده استاندارد کیفیت آب برای پرورش زالو

مواد و روش‌ها

این پژوهش در استان مازندران شهرستان بابلسر در مزرعه پرورش زالو منطقه عرب‌خیل در مجاورت دریا انجام شد. مجموع دوره پرورش به‌مدت ۴ ماه می باشد. تعداد ۱۰ مخزن تقریباً به حجم ۱۰ لیتر که در ظروف شیشه‌ای با یک پارچه توری نخی بسته شده بود تا امکان خروج زالوها از مخزن وجود نداشته باشد. هر یک از مخازن پرورشی دارای ۲۵ زالو به سایز ۳-۴ سانتی‌متر استفاده شده که در دو هفته یک‌بار با زیست‌سنجی اندازه‌گیری شدند. بعد از ۱ ماه از تولد زالو می‌توان با تغذیه غیرمستقیم لاروها با گیاهانی مانند کاهو خوراکی و گیاهانی از این قبیل، بچه‌زالوها را تغذیه نمود و سپس بچه‌زالوها را در امر تغذیه با خون آشنا کرد. غذای مورد استفاده خون گاو است که هر ۱۵ روز یک‌بار غذادهی شدند و آب مخزن هر دو روز در میان تعویض

شد. در این تحقیق از زالوهای ۴ ماهه تا ۸ ماهه برای پژوهش استفاده می‌شود. لذا در این سن به بررسی کیفیت آب و رشد و تلفات خواهیم پرداخت.

تیماربندی: در این تحقیق ۱۰ مخزن با ۱۰ تیمار انتخاب و شماره‌گذاری و براساس بروشور پیشنهادی شرکت طراحی شد (هر گالن برابر با ۳/۷۵ لیتر می‌باشد).

جدول ۴: براساس بروشور پیشنهادی شرکت تجاری

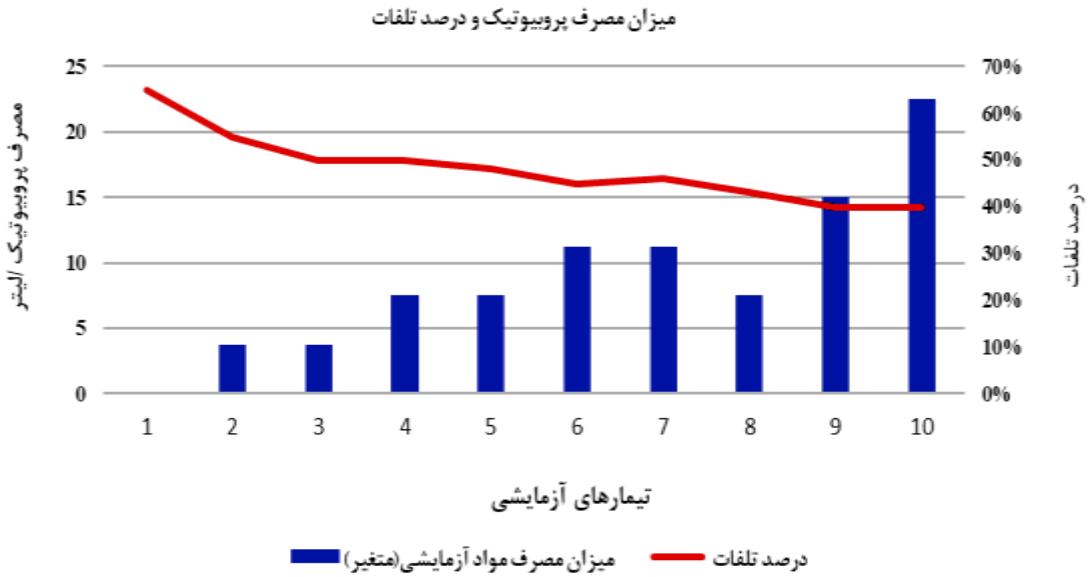
شماره تیمار	حجم مخازن (لیتر)	شماره مخزن	میزان مصرف مواد آزمایشی(سی‌سی بر لیتر)
۱	۱۰	۱	-
۲	۱۰	۲	HC =۳/۷۵
۳	۱۰	۳	SA =۳/۷۵
۴	۱۰	۴	HC =۷/۵
۵	۱۰	۵	SA =۷/۵
۶	۱۰	۶	HC =۱۱/۲۵
۷	۱۰	۷	SA =۱۱/۲۵
۸	۱۰	۸	HC= ۳/۷۵ ،SA =۳/۷۵
۹	۱۰	۹	HC= ۷/۵ ،SA =۷/۵
۱۰	۱۰	۱۰	HC=۱۱/۲۵ ،SA =۱۱/۲۵

مدل تحقیق بر اساس تعیین میزان مصرف هر کدام از مواد پروبیوتیک مورد استفاده بوده که به‌طور جداگانه و به‌صورت ترکیبی و بررسی تاثیرات متقابل بر روی یکدیگر سنجیده خواهد شد. نتایج نشان می‌دهد که آیا استفاده از این مواد بر روی رشد و بازماندگی تاثیر مستقیم دارد و یا ندارد.

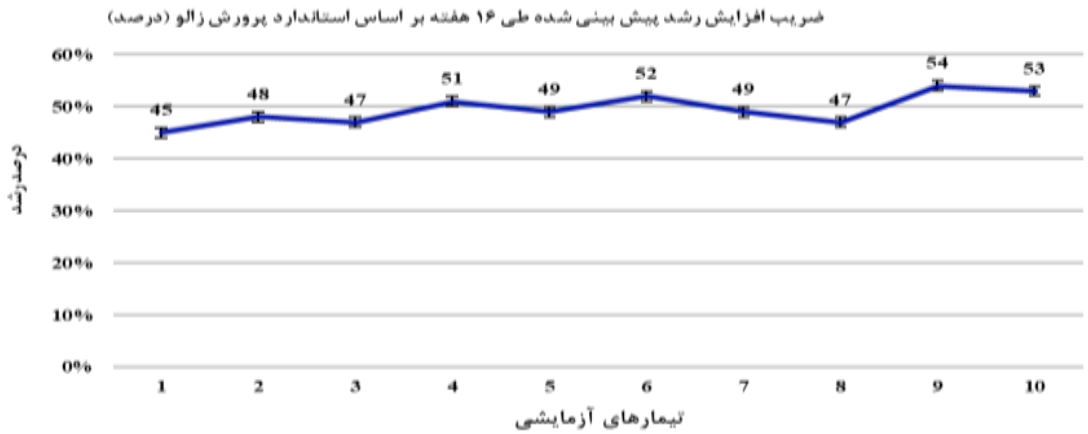
نحوه افزودن پروبیوتیک به آب مخزن پرورش زالو: در طی زمان پرورش زالو که در این تحقیق به‌مدت ۴ ماه یا ۱۶ هفته پژوهش انجام شده پروبیوتیک‌های تجاری (HC, SA) در جدول۵ به آب اضافه می‌شود. پروبیوتیک HC و SA براساس زمان پرورش ۴ ماه از هفته چهارم ماه اول تا هفته اول ماه چهارم مورد استفاده قرار گرفته است. میزان مصرف در طی دوره پرورش ۴ نوبت و هر نوبت به‌میزان مساوی استفاده گردیده است. تعویض آب در هفته برای کلیه تیمارها دو بار در هفته انجام شده است.

جدول ۵: میزان مصرف مواد پروبیوتیک در پرورش زالو

تیمارها	میزان مصرف پروبیوتیک (سی‌سی بر لیتر)	درصد تلفات	ضریب افزایش رشد پیش بینی شده طی ۱۶ هفته بر اساس استاندارد پرورش زالو (درصد)
۱	-	۶۵	۴۵
۲	HC =۳/۷۵	۵۵	۴۸
۳	SA =۳/۷۵	۵۰	۴۷
۴	HC =۷/۵	۵۰	۵۱
۵	SA =۷/۵	۴۸	۴۹
۶	HC =۱۱/۲۵	۴۵	۵۲



جدول ۱: نمودار میزان مصرف پروبیوتیک و درصد تلفات در تیمارهای آزمایشی پرورش زالو



جدول ۲: نمودار ضریب افزایش رشد پیش‌بینی شده در پرورش زالو

نتایج

یکی از آزمون‌هایی که باید در تحلیل واریانس با مقادیر تکراری به‌کار می‌رود، آزمون کرویت موچلی (Mauchly's Sphericity Test) است که برای بررسی یکسان بودن واریانس‌ها در بین گروه‌ها یا تیمارها به کار می‌رود. آزمون کرویت موچلی در تحلیل واریانس با اندازه مکرر یا مقادیر تکراری برای ارزیابی پیش‌فرض کرویت در تحلیل واریانس به‌کارمی‌رود. این آزمون توسط آماره F و هم‌چنین روش‌های تصحیح، قابل استفاده است. در نرم‌افزار SPSS به‌خصوص برای تحلیل واریانس با اندازه تکراری از این آماره و آزمون برای سنجش صحت فرض کروی بودن استفاده می‌شود. درصورتی‌که زمان (ماه) اندازه‌گیری را در نظر نگیریم با آنالیز واریانس می‌توان اثر مخزن‌ها را سنجید که اختلاف معنی‌داری بین میزان مصرف مواد HC و SA مخزن‌ها وجود دارد:

جدول ۶:آنالیز واریانس مصرف پروبیوتیک‌ها در تیمارهای پرورشی

	درجه آزادی	مجموع مربعات آماری	میانگین مربع آماری	تست آماری F	سطح معنی‌دار بودن Pr(>F)	
متغییرها	۱۰	۹۷/۱۱۰	۹۹۷/۱۱	۶۱/۲۵	<۲e-۱۰	***
باقی‌مانده	۴۷	۳۶/۱۶	۱۵۴/۰			

با آزمون توکی تفاوت معنی‌دار بین (تیمارها) سنجیده می‌شود که‌نشان‌دهنده مقادیر ۶، ۸، ۹و ۱۰ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر مخازن می باشد.

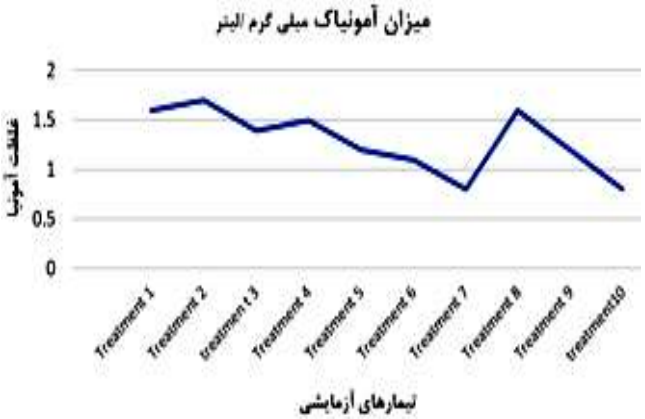
شاخص تست آمونیوم: برای سنجش عملکرد مواد پروبیوتیک به‌کار رفته در پرورش زالو می‌توان از یکی از شاخص‌های اساسی کیفیت آب زالو براساس جداول استاندارد استفاده نمود. در این بخش از شاخص آمونیوم استفاده شده و مراحل تست‌های انجام شده نشان می‌دهد که آمونیوم به‌عنوان شاخص اندازه‌گیری مطرح می‌باشد. با توجه به اندازه‌گیری آمونیاک اختلاف معنی‌دار در بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت. در تیمار ۷ و ۱۰ کم‌ترین آمونیاک را نشان داد.

جدول ۷:آزمون توکی مصرف پروبیوتیک‌ها در تیمارهای آزمایشی

تیمارها	ارزش
تیمار ۱	۳/۲۳۷۵۰
تیمار۲	۳/۵۱۸۷۵
تیمار۳	۳/۸۱۸۷۵
تیمار۴	۳/۳۷۵۰۰
تیمار۵	۳/۹۳۱۲۵
تیمار۶	۴/۷۶۸۷۵
تیمار۷	۳/۶۷۵۰۰
تیمار۸	۴/۸۸۱۲۵
تیمار۹	۴/۸۶۸۷۵
تیمار۱۰	۴/۸۵۶۲۵

جدول ۸: میزان آمونیاک در تیمارهای آزمایشی

تیمارها	آمونیاک (میلی‌گرم/لیتر)
تیمار ۱	۱/۸
تیمار۲	۱/۷
تیمار۳	۱/۴
تیمار۴	۱/۵
تیمار۵	۱/۲
تیمار۶	۱/۱
تیمار۷	۰/۸
تیمار۸	۱/۶
تیمار۹	۱/۲
تیمار۱۰	۰/۸



جدول ۳: نمودار میزان تغییرات آمونیاک موجود در آب مخازن پرورش زالو

جدول ۹:آنالیز تست کرویت آمونیاک تیمارهای پرورشی

تاثیرات	آزمون W	احتمالات	ضریب احتمال ۵ ٪
ماه	۰/۱۵۷۰۰۱۸	۰/۰۰۰۶۲۷۸۰۱۵	*

با توجه به جدول ۹ تست کرویت معنی‌دار شدو تصحیح کرویت اعمال شد و باز هم اختلاف معنی‌دار بین ماه‌های نمونه‌برداری از نظر آمونیم وجود داشت.

جدول۱۰ : آنالیز واریانس آمونیوم آب تیمارهای پرورشی

	درجه آزادی	مجموع مربعات آماری	میانگین مربع آماری	تست آماری F	Pr(>F)	
متغییرها	۱۳	۱۶/۱۴	۱/۲۴۱۴	۱۰/۸۴	<۲e-۱۶	***
باقی‌مانده	۲۱۰	۲۴/۰۶	۰/۱۱۴۶			

با توجه به جدول ۱۰ آنالیز واریانس اختلاف معنی‌داری بین مخزن‌ها از نظر آمونیوم نشان داد. هم‌چنین با آنالیز تست توکی آمونیوم تیمارهای مختلف پرورشی بیش‌ترین آمونیوم را در تیمار پرورشی زالو ۱ نشان داد (جدول ۱۱).

جدول۱۱ : آنالیز تست توکی مقایسه آمونیوم آب تیمارهای پرورشی

تیمارها	میزان	گروه‌ها
تیمار ۱	۱/۸۰۶۲۵	a
تیمار۲	۱/۶۶۲۵۰	ab
تیمار۳	۰/۸۶۸۷۵	e
تیمار۴	۱/۳۱۸۷۵	bcd
تیمار۵	۰/۹۸۷۵۰	de
تیمار۶	۱/۱۵۶۲۵	cde
تیمار۷	۱/۰۰۶۲۵	cde
تیمار۸	۱/۴۰۰۰۰	bc
تیمار۹	۱/۰۵۰۰۰	cde
تیمار۱۰	۱/۰۸۷۵۰	cde

ماتریس برنامه‌ریزی استراتژیک کمی یا QSPM: ماتریس برنامه‌ریزی استراتژیک کمی (QSPM) ابزاری برای تحلیل سناریوها و انتخاب بهترین سناریو برای اجرای استراتژی در تحلیل سوات است. این‌واژه (Quantitative Strategic Planning Matrix)می‌باشد.در واقع یکی از روش‌ها و تکنیک‌های ارزیابی، پایش و نظارت برای تحقق استراتژی استفاده از ماتریس برنامه‌ریزی استراتژیک کمی یا QSPM می‌باشد. در این روش که در بسیاری از پژوهش‌های مربوط به مدیریت تولید و برنامه‌ریزی استراتژیک مورد استفاده قرار می‌گیرد مشخص می‌گردد که کدامیک از گزینه‌های استراتژیک انتخاب شده امکان‌پذیر می‌باشد و در واقع این استراتژی‌ها را اولویت‌بندی می‌نماید. این ماتریس از اطلاعات به‌دست آمده در مراحل مختلف مدیریت و برنامه‌ریزی استراتژیک و راهبردی استفاده نموده و مانند سایر روش‌های راهبردی نیازمند قضاوت خوب، خبرگی و آگاهی است. ماتریس QSPM برای ارزیابی امکان‌پذیری و پایداری راهکارهای پیشنهادی در مواجهه با شرایط محیطی و وضع موجود می‌باشد (جدول ۶).

جدول ۶: ضرایب ماتریس برنامه‌ریزی استراتژیک کمی عوامل تاثیرگذار اصلی در صنعت پرورش زالو ایران

شماره تیمار	پارامترهای آزمایشی	عدم استفاده از پروبیوتیک	استفاده از پروبیوتیک
۱	حفاظت از محیط زیست	۱	۴
۲	بهبود سلامت زالو	۱	۳
۳	بهبود ایمنی زالو	۱	۲
۴	رشد	۱	۲
۵	سود آوری	۱	۲
۶	هزینه	۳	۱
۷	کمبود آموزش	۱	۱
۸	دسترسی به موادپروبیوتیک	۱	۱
	جمع‌بندی	۱۰	۱۶

با توجه به آزمایشات انجام گرفته در هر مخزن میزان مصرف مواد پروبیوتیک در زالو در جدول ۵ آورده شده است. در هر کدام از تیمار آزمایشی و متغیرهای مربوطه نتایج مربوط به تلفات و افزایش رشد به‌دست آمده است. نتایج نشان می‌دهد که در ۱۰ تیمار آزمایشی نتیجه مختلفی به‌دست آمده است که در بررسی با یکدیگر به این موضوع پی بردیم که براساس داده‌های به‌دست آمده در قالب دو شاخص درصد تلفات و درصد شاخص رشد می‌توان گفت در جدول ۵ میزان غلظت پروبیوتیک مورد مصرف با نام مستعار HC,SA ۷/۵ سی‌سی در لیتر (تیمار ۹) بوده که دارای وضعیت مناسب‌تری نسبت به سایر تیمارها داشته است، لذا امکان استفاده از این میزان غلظت پروبیوتیک در پرورش زالو عملاً توانسته است نتایج بهتری را داشته باشد. لذا در

فعالیت‌های پرورش زالو، ترکیب تیمار شماره ۹ نسبت به ۹ تیمار دیگر وحتی نسبت به تیمار شاهد که تیمار ۱ می‌باشد دارای وضعیت بهتری دارد. فرمول ذیل نشان‌دهنده بهترین مدیریت اجرایی در فعالیت‌های زالو می‌باشد که به‌شرح ذیل بیان شده است.

= بهترین مدیریت اجرایی(BMP)

۵۴٪رشد+۴۰٪تلفات =۷/۵سی‌سی برلیتر SA+۷/۵سی‌سی برلیتر HC

با استفاده از ضریب ماتریس برنامه‌ریزی استراتژیک کمی عوامل تاثیرگذار اصلی در صنعت پرورش زالو ایران که شامل پارامترهای حفاظت از محیط زیست، بهبود سلامت زالو ، بهبود ایمنی زالو، رشد، سودآوری، هزینه تولید، کمبود آموزش، دسترسی به موادپروبیوتیک می‌باشد. در جدول ۶ مشاهده شده که مجموع پارامترهای پرورش زالو در عدم استفاده از پروبیوتیک عدد ۱۰ به‌دست آمده و در مجموع پارامترهای آزمایشی با استفاده از پروبیوتیک تجاری عدد ۱۶ را نشان می‌دهد که بسیار قابل توجه و کاربردی است. در نهایت نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که استفاده از غلظت مناسب پروبیوتیک تجاری اثرات مثبتی بر روی پرورش زالو دارد که از بروز تلفات و یا خسارت‌های پیش‌بینی نشده در پرورش جلوگیری نمود.

بحث

در سال‌های اخیر تحقیقات انجام شده در زمینه استفاده از پروبیوتیک‌ها(Probiotic) و پربیوتیک‌ها (Prebiotic) در سراسر جهان نتایج امیدوارکننده‌ای به‌دنبال داشته است. تمایل به افزایش استفاده از پروبیوتیک‌ها منجر به شناسایی میکروارگانیسم‌هایی شده که ممکن است اثرات مفیدی بر فلور باکتریایی روده آبزیان داشته باشند. پربیوتیک‌ها اساساً برای تغذیه پروبیوتیک‌هایی استفاده می‌شوند که نسبت به آنزیم‌های داخل بدن موجود مقاوم بوده و بنابراین به جایگاهی برای تکثیر و ازدیاد میکروفلور روده‌ای تبدیل می‌شوند. هدف از استفاده این محصولات طبیعی تأثیر آن‌ها بر روی فعالیت میکروب‌های دستگاه گوارش از طریق تثبیت میکروب‌های مطلوب و جلوگیری از تجمع باکتری‌های مضر و به‌دنبال آن کمک به حفظ سلامت آبزی می‌باشد (۱۳). از پروبیتیک‌های تجاری در بسیاری از آبزیان مانند میگو، کپور و تیلاپیا و... مورد استفاده قرار گرفته است. اثرات مثبت میکروارگانیسم‌ها بر روی آبزیان مختلف موجب افزایش رشد، بازماندگی و کاهش تلفات و بیماری و در نهایت افزایش تولید در واحد سطح بوده است. هم‌چنین استفاده از پروبیوتیک‌ها که در پرورش زالو به صورت کاربردی صورت گرفته، مانند سایر آبزیان نتایج مثبتی را به خود اختصاص داده است. Nimrat و همکاران، اعلام کردند پتانسیل پروبیوتیک‌های باسیلوس باعث افزایش تعداد باکتری‌ها، کیفیت آب و رشد در طی رشد اولیه میگوی سفیدغربی می‌شوند (۱۴). در تحقیقات صورت گرفته افزودن پروبیوتیک‌های باسیلوس به عنوان میکروکپسول به‌طور مستقیم در آب و یا با غنی‌سازی آرتمیا در تیمار آزمایشی نسبت به شاهد موثر بود. بنابراین تجویز ترکیب و تعداد پروبیوتیک‌های باسیلوس توام به‌طور قابل توجهی باعث بهبود رشد و بقای میگوی PL، افزایش باکتری‌های مفید و کیفیت در آب پرورش شده است. ترکیب پروبیوتیک‌های گونه باسیلوس نسبت به میزبانان خود ازجمله تقویت فعالیت هضم آنزیمی، فعال‌سازی دفاع ایمنی، فعالیت بازدارندگی در برابر عوامل بیماری‌زا، ارتقا رشد و بقای میگوی PL، بهبود کیفیت آب و تجزیه بیولوژیکی خاک ته‌حوضچه حاوی لجن آلی موثر هستند. هم‌چنین در بیش‌تر استخرهای پرورش میگو کیفیت آب، وضعیت ته‌حوضچه، بروز گازهای سمی مانند NH3، NO2، H2S و غیره و وقوع بیماری معمولاً پس از ۶۰ روز پرورش ظاهر می‌شود. به‌عنوان یک اقدام اصلاحی، استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان ابزار زیست‌فناوری برای تصفیه زیستی (بایورمدیاسیون) برای مزرعه پرورش میگو واقع در یک روستای سریجانگ در هند انجام گرفته است. در این تحقیق، مشخص شد که پروبیوتیک‌ها در کنترل و کاهش جمعیت باکتری بیماری‌زا ویبریو و گازهای سمی موثر بود (۱۵). در واقع، در سیستم‌های متراکم زالو مقادیر قابل توجهی از ضایعات و مواد ناخواسته تولید می‌شود که شامل فرآورده‌های متابولیک جانبی، باقی‌مانده‌های غذایی، مواد مدفوعی و باقی‌مانده‌های مواد داروئی می‌باشند. این مواد می‌توانند باعث از بین رفتن کیفیت آب و به‌هم خوردن شرایط اکولوژی مناسب درون مخازن و نتیجتاً شیوع بیماری‌ها شود. شرایط فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک محیط آبی در نتیجه تاثیر مستقیمی برسلامت زالو و رشد نهایی و تولید نهایی در مخازن زالو می‌باشد (۱۶). با توجه به نتایج آزمایشات صورت گرفته توسط دیگر محققین و نتایج حاصل از آزمایش صورت گرفته حاضر پروبیوتیک‌ها باعث بالارفتن مقاومت زالو در برابر بیماری‌ها، جلوگیری از رشد باکتری‌های مضر نظیر سالمونلا، کلوستريد و ای‌کولای و نهایتاً از ایجاد بیماری‌های جدی در زالو ممانعت نموده و یا اثر آن‌ها را محدود می‌کنند. ممانعت از بروز بیماری به‌وسیله یک تعادل خوب میکروفلوریایی ایجاد می‌گردد که در این حالت باکتری‌های مفید در موقعیتی مستقر می‌شوند که از مستقر شدن باکتری‌های مضر جلوگیری می‌کنند و مانع تکثیر آن‌ها می‌شوند (۱۷). در این خصوص، Ghajari نیز استفاده از تکنولوژی‌های نوین در صنعت آبزی‌پروری کشور را تایید و تاکید کرد (۱۸). با توجه به این‌که پرورش زالو در ایران رشد یافته و برای جلوگیری از افزایش رقبا در این زمینه پیشنهاد می‌شود که برای جلوگیری از تلفات زالو در پرورش از این مواد پروبیوتیک تجاری استفاده شود

چرا که رشد و بازماندگی زالو افزایش می‌یابد. بنابراین، نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که در پرورش زالو استفاده از مواد بهبوددهنده آب از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. این پژوهش نه تنها اهمیت استفاده از مواد بهبوددهنده را نشان می‌دهد بلکه میزان مصرف آن را تا حدود زیادی روشن می‌سازد. از سوی دیگر اهمیت افزایش تولید زالو در ایران با توجه به خاصیت درمانی و تولید فراورده‌های زالو، اشتغال‌زایی و ارزآوری به کشور و هم‌چنین با افزایش پرورش زالو و صادرات آن به کشورهای دیگر جایگاه ویژه‌ای در بازارهای بین‌المللی کسب و با کمک علم آینده‌پژوهی استراتژی‌های آینده را تعیین کرد.

آینده‌پژوهی: شامل روندهای حاکم نیز بخش زیادی از آینده را تشکیل می‌دهند. رویدادهای نامتعارف در قالب شگفتی‌ها قابل بررسی است. آینده‌نگری در بلندمدت کار بسیار سختی است که ممکن است میزان تحقق آن بسیار متفاوت باشد. شناخت و تحلیل حاکمیت‌ها، نهادها و قوانین و مقررات ساختارها و سیستم‌های اجتماعی و اقتصادی امکان سخن گفتن در آینده را فراهم می‌کنند (۱۹). با توجه به فعالیت‌های جدید پرورش زالو و توسعه سریع آن در کشور نیاز به تکنیک‌های پرورش که اغلب با روش‌های سنتی و غیرعلمی انجام گردیده بازنگری شود و سعی گردد با به‌کارگیری روش‌های نوین، تلاش بیش‌تری برای بهبود تولید کمی و کیفی زالو کشور انجام شود تا بتوان آینده پرورش زالو در ایران را در جهت تامین نیاز داخلی و صادرات و ارزآوری و رقابت در بازارهای جهانی با استفاده از مواد جدید پروبیوتیک در افزایش بازماندگی زالو بسیار مفید و موثر واقع گردد (۲۰). هم‌چنین سوابق کشورهای مختلف تولیدکننده زالو همانند فرانسه به‌طور شاخص و ترکیه نشان می‌دهد که جهت صادرات و رقابت با کشورهای مختلف بالا بردن سطح فناوری‌های نوین و بومی‌سازی آن به‌صورت آموزش همگانی در صنعت پرورش زالو الزامی است. درواقع، نتایج این تحقیق با توجه به مثبت بودن آزمایشات می‌تواند در سایر مزارع پرورش زالو به‌صورت کاربردی از لحاظ فنی و اقتصادی قابل توسعه باشد.

منابع

1. **Ceylan, M., Küçükkara, R., Erbatur, İ., Karataş, E., Tunç, M. and Sağlam, N., 2021.** Growth, survival and reproduction of the Turkish medicinal leech, *Hirudo sulukii*. Invertebrate Reproduction & Development. 1-12.
2. **Ma, C.J., Li, X. and Chen, H., 2021.** Research progress in the use of leeches for medical purposes. Tradit Med Res. 6(2): 15.
3. **Abatenh, E., Gizaw, B., Tsegay, Z., Tefera, G. and Aynalem, E., 2018.** Health benefits of probiotics. Journal of Bacteriology Infectious Disease. 2(1): 8-27.
4. **Baskova, I.P., Cherkesova, D.U. and Mossolow, V.V., 1983.** Hirudin from leech head and whole leech and *Pseudo hirudin* from leech bodies. Thrombosis Research. 30: 459-467.
5. **Elliott, J.M. and Tullett, P.A., 1984.** The status of the medicinal leech *Hirudo medicinallis* in Europe and especially in the British Isles. Biological Conservation. 29(1): 15-26.
6. **Palm, N.M., Wesolowski, J.C., Wu, J.Y. and Srinivas, P., 2021.** Implementation of a Leeches+ antimicrobial Prophylaxis order panel to optimize medicinal leech use at a tertiary care academic medical center. Journal of Pharmacy Practice. 0897190021993683.
7. **Gouda, H.A., 2006.** The effect of peritrich ciliates on some freshwater leeches from Assiut, Egypt. Journal of Invertebrate Pathology. 93: 143-149.
8. **Kais, F., Najla, H., Ibtissem, C., Amel, D., Mohammed Ezz, E.M., Bochra, K., Faouzi, L., Kamel, C., Nabil, A., Hajer, M., Sadok, K. and Hechmi, M., 2017.** Culture conditions improvement of *Crassostrea gigas* using a potential probiotic *Bacillus* sp strain. Microbial Pathogenesis. 110: 654-658.
9. **Li, T., Teng, D., Mao, R., Hao, Y., Wang, X. and Wang, J., 2020.** A critical review of antibiotic resistance in probiotic bacteria. Food Research International. 109571.
10. **Fernandez, R., Sridhar, M. and Sridhar, N., 2011.** Effect of lactic acid bacteria administered orally on growth performance of *Penaeus indicus* (H. Milne Edwards) juveniles. Research Journal of Microbiology. 6(5): 466-479.
11. **Krishnani, K.K., Kathiravan, V., Meena, K.K., Sarkar, B., Kumar, S., Brahmane, M.P. and Kailasam, N.K.M., 2019.** Bioremediation of aquatic toxicants: application of multi-omic approaches. Narendra Publishing House, Delhi, India.
12. **Department of Fisheries Malaysia. 2009.** Penukaran Jabatan Teknikal Bagi Pengurusan Permit Eksport/Import dan Angkutuntuk Lintahdari Perhilitan ke Jabatan Perikanan Malaysia. Putrajaya: Government Printing Office.
13. **MohdAmri, A., 2009.** HDC Industry Development Corporation, S.B, 5.02 Level 5 KPMG 1stAvenue, Persiaran Bandar Utama, Bandar Utama, 47800 Petaling Jaya. Interview. June 10.
14. **Nimrat, S., Suksawat, S., Boonthai, T. and Vuthiphandchai, V., 2012.** Potential Bacillus probiotics enhance bacterial numbers, water quality and growth

during early development of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Veterinary microbiology. 159(3-4): 443-450.

15. **Jha, A.K., 2011.** Probiotic technology: an effective means for bioremediation in shrimp farming ponds. Journal of Bangladesh Academy of Sciences. 35(2): 237-240.

16. **Vidali, M., 2001.** Bioremediation. an overview. Pure and applied chemistry. 73(7): 1163-1172.

17. **Crab, R., Avinimeleh. Y., Defoirdt, T., Bossier, P. and Verstrate, W., 2007.** Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture. 270: 1-14.

18. **Ghajari, A., 2018.** The use of new technologies in the aquaculture industry, a report submitted to the health and diseases office of the country's veterinary organization. Internal report of the organization.

19. **Khazaei, S., 2019.** Principles and foundations of future research in business. Future research today's need, tomorrow's need. Workshop on the basics of future research and business opportunistic methods.

20. **Anderson, J.L., Asche, F. and Garlock, T., 2019.** Economics of Aquaculture Policy and Regulation. Annual Reviews of Resource Economics. 11: 101-123.