



## Studying the effects of two probiotic supplements on growth and survival factors of cultured Vannamei shrimp in conditions of exposure and without exposure to *Vibrio parahaemolyticus* and their effect on the organoleptic assessment

Abbas Zahedi dehui<sup>1</sup> **Alireza Golchin Manshadi<sup>2\*</sup>**, Mohammad Hossein Marhamatizadeh<sup>1</sup>, Sedigheh yazdanpanah<sup>3</sup>, Mohammad Tarahomi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Hygiene, Kaz .C, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

<sup>2</sup>Department of Aquatic Animal health, Kaz .C, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

<sup>3</sup>Department of food science and technology, Kaz .C, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

Received Date:2026.06.03 Accepted Date:2026.07.06

### Abstract

900 one-gram shrimp were raised in six treatments with three replicates each. At the end of the 6th period, treatments C2, T2, and T4 were exposed to *Vibrio parahaemolyticus*, and the experiment continued until the 9th period. We also tested the sensory quality of shrimp from treatments C1, T1, and T3 on days 0, 5, and 10 at 4°C using ten evaluators. The results showed that treatment T1 performed best for most indices, followed by T3, T2, T4, C1, and C2. Most parameters showed significant differences between treatments, except for body weight gain percentage and specific growth rate. Overall, probiotics—especially Bio Aqua—significantly improved growth and survival. Sensory tests showed "excellent" scores on day 0. On day 5, most attributes stayed "excellent," except for the eyes. By day 10, color, texture, and shell quality were "good" (except color in C1 and T3), but odor and the condition of the head and tail were "unacceptable" for all groups. While sensory scores changed significantly over time within each treatment, there was no significant difference between treatments C1, T1, and T3. In conclusion, probiotics in terms of sensory indicators did not affect the spoilage rate during refrigerated storage.

**Key words:** Probiotic, AHPND, Sensory characteristic, Growth performance and survival rate

\* dr.golchin@iau.ac.ir

## EXTENDED ABSTRACT

**Introduction:** Disease outbreaks, particularly Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) caused by *Vibrio parahaemolyticus*, have caused an estimated 43 billion dollars in losses to the global shrimp farming industry. The use of antibiotics has been associated with gut microbiota disruption and the development of antibiotic resistance, necessitating alternative strategies. Probiotics, especially multi-strain formulations containing *Bacillus* species, have shown promise in enhancing growth performance, immune responses, and survival in shrimp. This study investigated the effects of two commercial multi-strain probiotic supplements BioAqua Pond V (containing four bacterial species and one alga) and Proxin (containing four bacterial species) on growth parameters, survival rate, resistance to *V. parahaemolyticus* challenge, and post-harvest sensory quality of *Litopenaeus vannamei*.

**Materials and Methods:** Nine hundred juvenile *L. vannamei* with an average weight of approximately 1 gram were obtained from the Bandar Shahid Kolahi Minab center in Hormozgan Province and randomly distributed into 18 fiberglass tanks (50 L water volume, 50 shrimp per tank) across six treatments with three replicates each. After a one-week antibiotic treatment with oxytetracycline to eliminate bacterial contamination, shrimp were fed commercial feed supplemented with probiotics. Treatments T1 and T2 received BioAqua Pond (four bacteria plus one alga), T3 and T4 received Proxin (four bacteria), while C1 and C2 served as controls without probiotics. Water quality parameters including temperature (28–32°C), salinity (28–32 ppt), pH (7.7–8.5), dissolved oxygen (>5 mg/L), and ammonia nitrogen (<0.2 mg/L) were maintained throughout the 90-day rearing period. On day 60, treatments T2, T4, and C2 were challenged with AHPND-infected shrimp tissue to induce *V. parahaemolyticus* infection. Growth indices including Body Weight Increase (BWI), Percentage of Body Weight Increase (PBWI%), Specific Growth Rate (SGR), Growth Rate (GR), Feed Conversion Ratio (FCR), and Survival Rate (SR) were recorded every 10 days. For sensory evaluation, 10 shrimp from non-challenged treatments (T1, T3, C1) were stored at 4°C and assessed on days 0, 5, and 10 by ten trained panelists using a 1–10 scoring system. Data were analyzed using one-way ANOVA and Duncan's test at a 95% confidence level in SPSS version 25.

**Results and Discussion:** The results showed that probiotic supplementation significantly improved growth parameters and survival compared to controls. Treatment T1 (BioAqua Pond without challenge) consistently exhibited the highest values for Body Weight Increase (BWI), Percentage of Body Weight Increase (PBWI%), Growth Rate (GR), total weight, and the best Feed Conversion Ratio (FCR). Treatment T3 (Proxin without challenge) showed the second-best performance, followed by challenged probiotic groups (T2 and T4) and controls (C1 and C2). Survival rate was significantly higher in all probiotic treatments, with T1 showing the highest survival and C2 (challenged control) the lowest. Specific Growth Rate (SGR) was numerically higher in probiotic treatments but did not reach statistical significance. Feed consumption was higher in probiotic treatments, likely due to reduced mortality and increased biomass. The superior performance of BioAqua Pond over Proxin can be attributed to its algal component, which provides essential amino acids, vitamins, and trace minerals that enhance nutrient absorption and immune function. These findings align with previous studies by Akbary et al. (2023) and Zhang et al. (2023), who reported that algal extracts improve growth and survival in shrimp. The improved FCR in probiotic treatments can be explained by the production of extracellular enzymes (proteases, amylases) by probiotic bacteria, which enhance feed digestibility and nutrient utilization, as described by Irianto and Austin (2002). Multi-strain probiotics offer synergistic benefits through complementary enzyme activities and broader pathogen inhibition. Sensory evaluation revealed no significant differences between treatments at any time point. On day 0, all treatments scored excellent (8–10) for all parameters. On day 5, most parameters remained excellent except eye condition. On day 10, color, flesh firmness, and shell condition declined to good (6–8), while odor and cephalothorax/tail condition became unacceptable (<4). This indicates that probiotic supplementation during rearing does not affect post-harvest spoilage, as general biochemical processes of lipid and protein oxidation dominate regardless of initial nutritional status. This finding is consistent with Pellegrini et al. (2025), who reported that probiotics cannot significantly reduce the rate of microbial and chemical spoilage after harvest. Studies by Pabast et al. (2018) and Maghami et al. (2019) suggest that coating with chitosan or algal extracts may be more effective for extending shelf life.

**Conclusion:** This study evaluated the effects of two commercial multi-strain probiotic supplements, BioAqua Pond V (four bacteria plus one alga) and Proxin (four bacteria), on growth performance, survival, and post-harvest sensory quality of *L. vannamei* under normal conditions and challenge with *V. parahaemolyticus*. The probiotic supplement BioAqua Pond V, followed by Proxin, significantly improved growth indices, feed conversion efficiency, and survival rate of *L. vannamei*, and enhanced resistance to AHPND compared to control groups. However, neither probiotic could protect against post-harvest spoilage at refrigerator temperature. Based on these findings, the use of BioAqua Pond V is recommended for shrimp farmers to improve production performance and disease resistance, while post-harvest preservation requires additional strategies such as edible coatings.



## بررسی اثرات دو مکمل پروبیوتیکی بر فاکتورهای رشد و بازماندگی میگوی وانامی پرورشی در شرایط مواجهه و بدون مواجهه با باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس و تأثیر آنها بر خواص ارگانولپتیک میگو

عباس زاهدی دهویی<sup>۱</sup>، علیرضا گلچین منشادی<sup>۲\*</sup>، محمد حسین مرحمتی زاده<sup>۱</sup>، صدیقه یزدان پناه<sup>۲</sup>، محمد ترحمی<sup>۲</sup>

۱- گروه بهداشت بهداشت مواد غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

۲- گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

۳- گروه صنایع غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۱۵

### چکیده

۹۰۰ میگوی یک گرمی در شش تیمار به صورت سه تکرار پرورش یافتند. در پایان دهه ششم در تیمارهای C2، T2 و T4 مواجهه با باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس انجام گرفت و پرورش تا پایان دهه نهم ادامه یافت. همچنین، تأثیر پروبیوتیک ها بر شاخص های حسی میگوهای T1، C1 و T3 در روزهای صفر، ۵ و ۱۰ در دمای ۴ درجه سانتی گراد توسط ده ارزیاب مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد در مورد غالب شاخص ها بیشترین نرخ مربوط به تیمار T1 و پس از آن به ترتیب T3، T2، T4، C1 و C2 قرار گرفتند. بجز شاخص درصد افزایش وزن بدن و سرعت رشد ویژه که اختلاف بین تیمارها از نظر آماری معنی دار نبود، در بقیه اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده شد. نتایج نشان داد پروبیوتیک ها به ویژه بيو آکوا، تأثیر بسزایی در بهبود رشد و بقا دارند. در آزمون حسی، میگوها در روز صفر امتیاز عالی داشتند. در روز پنجم، اکثر شاخص ها (به جز وضعیت چشم ها) در رده عالی باقی ماندند، اما در روز دهم شاخص هایی مانند رنگ، بافت و پوسته بجز شاخص رنگ در تیمار C1 و T3 در محدوده خوب قرار گرفتند. شاخص بو و وضعیت سرسینه و دم در همه تیمارها غیر قابل قبول بود. در شاخص های حسی مورد بررسی بین روزهای مختلف بررسی در هر تیمار، اختلاف معنی داری وجود داشت اما بین سه تیمار C1، T1 و T3 اختلاف معنی داری نبود. استفاده از ترکیبات پروبیوتیکی در تغذیه میگوها تأثیری از نظر شاخص های حسی در جلوگیری از روند فساد در زمان نگهداری میگو در دمای یخچال نداشت.

**واژه های کلیدی:** بیماری نکروز حاد هپاتوپانکراس، پروبیوتیک، خواص حسی، ویژگی های رشد و بازماندگی

\* dr.golchin@iaua.ac.ir

از آنتی‌بیوتیک‌ها با تغییر میکروبیوتای روده میزبان و ایمنی او و همچنین توسعه مقاومت باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌ها مرتبط است. به عنوان مثال، سویه های *Vibrio parahaemolyticus* عامل AHPND در مکزیک گزارش شده است که ژن *tetB* را حمل می‌کند که برای مقاومت به تتراسایکلین کد می‌دهد، و گونه *V. campbellii* از چین جداسازی شده است که چندین ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها را دارا بود. نگرانی قابل تأمل این است که ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک می‌توانند به سرعت در بین جمعیت‌های باکتریایی مختلف منتشر شده و یا از طریق جهش کروموزومی یا کسب پلاسمیدها به دست آیند (۳). در این میان یکی از راهکارهای مهم برای پیشگیری و درمان این بیماری و برحذرماندن از عوارض جانبی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، بکارگیری پروبیوتیک هاست. پتانسیل سودمند پروبیوتیک‌ها برای آبرزی پروری میگو می‌تواند شامل افزایش عملکرد رشد، بهبود کیفیت آب، مهار پاتوژن، افزایش بقای میگو، بهبود پاسخ‌های ایمنی و بهبود هضم مواد مغذی باشد. استفاده از پروبیوتیک‌ها را می‌توان یکی از دستاوردهای مفید مثبت در این زمینه عنوان کرد و اخیراً در آبرزی پروری متداول گردیده است (۵ و ۶). پروبیوتیک‌ها به عنوان یک دفاع مؤثر در برابر میکروب‌های مضر عمل می‌کنند (۷ و ۸). از طرف دیگر پروبیوتیک‌ها با تحریک سیستم ایمنی، تولید مواد ممانعت کننده از رشد و تکثیر عوامل بیماری‌زا، اشغال سطوح روده و ممانعت از استقرار عوامل بیماری‌زا، باعث افزایش مقاومت به عوامل نامساعد و بیماری‌زا و در نتیجه ارتقای نرخ بازماندگی می‌شوند. پروبیوتیک‌ها در وهله اول به عنوان عامل کنترل بیماری در پرورش میگو در نظر گرفته می‌شدند. در زمینه کنترل بیماری، ثابت شده است که پروبیوتیک‌ها به طور مستقیم قادر به مهار رشد و تکثیر عوامل بیماری‌زا و همچنین تحریک تسلط عوامل میکروبی مفید در بدن میزبان و تکثیر آنها هستند (۹). این میکروارگانیسم‌های مفید قادر به تولید مواد بازدارنده هستند که می‌تواند به طور مستقیم به پاتوژن‌های باکتریایی و ویروسی آسیب برساند (۱۰). حفاظت از میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا پس از مصرف

## مقدمه

میگو به عنوان یک غذا با منبع پروتئینی بالا، یکی از سریع‌ترین بخش‌های در حال رشد در تولید غذا در جهان است. تولید میگو عمدتاً از سه گونه میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*)، پنئوس مونودون (*Penaeus monodon*) و شاه میگوی آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) تشکیل می‌شود. کشورهای شرق و جنوب شرق آسیا و آمریکای لاتین تا کنون سهم عمده‌ای از تولید میگو را داشته اند، اما بخش زیادی از مصرف در کشورهای توسعه یافته صورت می‌گیرد. در میان سخت‌پوستان، میگوی پاسبید غربی (وانامی) بالاترین ارزش تولید در واحد دلار با ارزش ۲۶.۷ میلیارد دلار را به خود اختصاص داده است (۱). چین و ویتنام در آسیا (۹۴۵,۷۹۱ تن) و ایالات متحده آمریکا (۸۳۷,۶۲۲ تن) بخش اعظم رشد تولید میگو را برعهده داشته‌اند. اکوادور به طور مداوم نرخ رشد سالانه ۱۷٪ را از سال ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۹ و ۲۵٪ از سال ۲۰۲۰ تا سه ماهه دوم ۲۰۲۳ را تجربه کرده است. همچنین بر اساس آمار ارائه شده توسط سازمان شیلات ایران (IFO)، در سال ۱۴۰۲ صادرات محصولات شیلاتی ایران به ارزش ۶۰۰ میلیون دلار رسیده است (۲). با این حال، شیوع بیماری‌ها که به عنوان عامل اصلی از دست رفتن تولید در پرورش میگو به شمار می‌روند، در سال‌های اخیر به صدر اهمیت رسیده و بی‌ثباتی اجتماعی، اقتصادی و زیست محیطی در صنعت پرورش میگو را در پی داشته‌اند. بیماری نکروز حاد هپاتوپانکراس، که توسط باکتری ویبریو ایجاد می‌شود، یک بیماری باکتریایی نسبتاً جدید در میگوهای پرورشی خانواده پنائیده است و شیوع این ۴۳ میلیارد دلار به صنعت پرورش میگو خسارت زده است (۳ و ۴). رویکردهای متداول مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و ضد عفونی کننده‌ها که اغلب برای کاهش اثر بیماری یا درمان آن به کار می‌روند، با موفقیت محدود مواجه هستند. استفاده

شدند (جدول ۱). به منظور اطمینان از فقدان آلودگی باکتریایی، میگوها با اکسی تتراسایکلین به میزان ۰/۴ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا به مدت یک هفته روزی دوبار تحت درمان قرار گرفته تا از فقدان هر گونه آلودگی باکتریایی میگوها اطمینان حاصل (۱۶). در طول دوره پرورش، درجه حرارت آب در محدوده °C ۲۸-۳۲، شوری آب در محدوده ppt ۲۸-۳۲، PH در محدوده ۷/۷-۸/۵، اکسیژن محلول بالای ۵ mg/L با تهویه مداوم و نیتروژن آمونیاکی زیر ۰/۲ میلی گرم در لیتر تنظیم گردید. دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی بود. روزانه باقی مانده غذای هر مخزن و تلفات از طریق سیفون کردن جمع آوری و ثبت گردید (۱۷). از غذای شرکت فرادانه با آنالیز پروتئین (۴۱-۳۹٪)، چربی (۷-۱۱٪)، فیبر (۴-۲٪)، خاکستر (۸-۱۳٪) و رطوبت (۵-۱۰٪) برای تغذیه میگوها استفاده گردید.

### تهیه پروبیوتیک

پروبیوتیک تجاری بکار رفته در این تحقیق از دو نوع مکمل پروبیوتیکی شامل پروکسین (شرکت به رشد) با چهار نوع باکتری و بیو آکوا پوند (شرکت ماهان) با چهار نوع باکتری و یک جلبک استفاده گردید. جهت آماده سازی این پروبیوتیک ها بر اساس دستور العمل Abdollahi Arpanahi و همکاران در ۲۰۱۴ عمل شد (۱۸). بدین صورت که پس از کشت بر روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار (TSA) برای مدت ۲۴ ساعت در دمای °C ۳۰ انکوباسیون شدند تا پرگنه ها نمایان شود. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom, Libra S 22) غلظت مورد نظر در طول موج ۶۰۰ nm بر مبنای CFU/mL تعیین گردید که از طریق اسپری نمودن به سطح غذای میگو مخلوط با روغن ماهی با استفاده از آگار به غذا اضافه شد.

### مواجهه با باکتری

در پایان هر دهه مجموع وزن هر تیمار با وزن کشی با ترازوی حساسیت یک صدم انجام شده و وزن بیومس زنده میگوها و همچنین وزن تلفات در طول یک دهه محاسبه و ثبت گردید. ثبت این اطلاعات در پایان هر دهه انجام شد. در پایان دهه

پروبیوتیک می تواند از طریق مهار مستقیم عوامل بیماری زا و یا به قابلیت پروبیوتیک ها در تنظیم سیستم ایمنی بدن میگو مرتبط باشد (۱۱). از جمله فواید پروبیوتیک ها می توان به اثر مثبت آنها در ارتقای سلامت و بهبود بقای میزبان اشاره کرد (۱۲). استفاده از پروبیوتیک ها باعث افزایش بقای میگوها از طریق حذف رقابتی عوامل بیماری زا در شرایط پرورش می شوند. پروبیوتیک ها می توانند از طریق محدود کردن باکتری های مضر با تولید ترکیباتی مانند باکتریوسین ها، سیدروفورها، لیزوئیمها، پروتئازها، هیدروژن پراکسیدها و جلوگیری از اتصال و کلونیزاسیون باکتری های مضر در روده، رقابت جهت مصرف مواد مغذی و ارتقای سیستم ایمنی آبرزی به وسیله تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی و فعالیت ضدویروسی قادر به افزایش بقای آبرزیان باشند (۱۳). باکتری های گرم مثبت خانواده باسیلوس که از جمله متداولترین پروبیوتیک های مورد استفاده در آبرزی پروری می باشند قادر به تولید و ترشح محدوده وسیعی از آنزیم های خارج سلولی هستند مخصوصاً باکتری های *Bacillus subtilis* و *licheniformis Bacillus* که قادر به هضم میکروبی پروتئین ها و کربوهیدرات ها می باشند (۱۴) و (۱۵). در مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات ترکیبات پروبیوتیکی بر شاخص های رشد و بازماندگی و شاخص های حسی در زمان بعد از صید میگو از دو ترکیب پروبیوتیکی بنام های Bio Aqua PondV و Proxin که هر دو شامل ۴ باکتری و ترکیب اول علاوه بر باکتری حاوی یک جلبک نیز بود استفاده گردید (جدول ۱).

### مواد و روش کار

#### تهیه و نگهداری میگو

تعداد ۹۰۰ میگوی جوان پا سفید غربی با وزن حدود یک گرم در مهر ماه ۱۴۰۳ از مرکز بندر شهید کلاهی میناب استان هرمزگان تهیه شد. میگوها در ۱۸ مخازن پلاستیکی با حجم آبگیری ۵۰ لیتر به تعداد ۵۰ عدد در شش تیمار به صورت چهار تیمار تغذیه با پروبیوتیک (T1, T2, T3, T4) و دو تیمار شاهد (C1 و C2) با سه تکرار بصورت تصادفی ذخیره سازی

ششم (روز ۶۰ آزمایش) در تیمارهای T2، T4 و C2 مواجهه با باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس انجام گرفت و به مدت ۳ دهه دیگر پرورش میگوها تا پایان دهه نهم ادامه یافت. برای آلوده کردن میگوها از تغذیه کردن میگوهای تیمارها و شاهد مثبت با میگوهای تلف شده بر اثر جدایه مرتبط با بیماری AHPND (که پس از انجام تست PCR، در فریزر منفی ۷۰ درجه سانتیگراد منجمد شده بودند) برای آلوده کردن میگوها استفاده گردید (۸ و ۱۹). در پایان هر دهه درصد بازماندگی و عملکرد رشد در تمامی تیمارها محاسبه و ثبت شده و در نهایت مورد سنجش و مقایسه قرار گرفت. لازم بذکر است در پایان هر دهه با توجه به وزن میگوها و تلفات ثبت شده میزان غذای روزانه برای دهه جدید محاسبه و اعمال شد. برای محاسبه درصد بازماندگی و عملکرد رشد در پایان هر دهه در تیمارهای مختلف از فرمول های زیر استفاده گردید (۲۰):

نرخ رشد ویژه (SGR):  $\text{لگاریتم وزن ثانویه} - \text{لگاریتم وزن اولیه} \div \text{روزهای پرورش} \times 100$

افزایش وزن بدن (BWI):  $\text{وزن ثانویه (گرم)} - \text{وزن اولیه (گرم)}$

درصد افزایش وزن بدن (%PBWI):  $\text{وزن ثانویه (گرم)} - \text{وزن اولیه (گرم)} \div \text{وزن اولیه (گرم)} \times 100$

در صد رشد روزانه (%GR):  $\text{وزن ثانویه (گرم)} - \text{وزن اولیه (گرم)} \div \text{روزهای پرورش} \times 100$

ضریب تبدیل غذایی (FCR):  $\text{وزن غذای خورده شده (گرم)} \div \text{وزن نهایی (گرم)} - \text{وزن اولیه (گرم)}$

درصد بازماندگی (SR):  $\text{تعداد لاروهای ثانویه} \div \text{تعداد لاروهای اولیه} \times 100$

جدول ۱- انواع تیمار، تعداد تکرار تیمار، مواجهه با باکتری، میزان پروبیوتیک مورد استفاده، نام تجاری پروبیوتیک و باکتری های موجود در محصول تجاری پروبیوتیک مورد استفاده جهت تغذیه میگوی وانامی

| نام تیمار | تعداد میگو در تکرار | مواجهه با باکتری | تغذیه با جیره واجد پروبیوتیک | نام تجاری پروبیوتیک | باکتری های پروبیوتیک                                                                                                                                          |
|-----------|---------------------|------------------|------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| T1        | ۳×۵۰                | منفی             | در گرم غذا $10^6$ CFU/Kg     | Bio Aqua PondV      | <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus subtilis</i><br><i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i><br><i>Enterococcus faecium</i> |
| T2        | ۳×۵۰                | مثبت             | در گرم غذا $10^6$ CFU/Kg     | Bio Aqua PondV      | <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus subtilis</i><br><i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i><br><i>Enterococcus faecium</i> |
| T3        | ۳×۵۰                | منفی             | در گرم غذا $10^6$ CFU/Kg     | Proxin              | <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i><br><i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>                                   |
| T4        | ۳×۵۰                | مثبت             | در گرم غذا $10^6$ CFU/Kg     | Proxin              | <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i><br><i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>                                   |
| C1        | ۳×۵۰                | منفی             | منفی                         | -                   | -                                                                                                                                                             |
| C2        | ۳×۵۰                | مثبت             | منفی                         | -                   | -                                                                                                                                                             |

### بررسی ویژگی های ارگانولپتیک (حسی)

برای این منظور در پایان دوره آزمایش از تیمارهای T1، T3 و C1 که با باکتری ویبریو پاراهمولایتیکوس مواجهه نداشتند بصورت رندوم تعداد ۱۰ میگو جهت انجام آزمون حسی انتخاب و در یخچال دمای ۴ درجه سانتی گراد ذخیره سازی شده و در روزهای صفر، ۵ و ۱۰ از ده ارزیاب (زن و مرد) آموزش دیده و مسلط به تست های پانل استفاده گردید. برای ارزیابی ویژگی های حسی نمونه های میگو بر اساس استانداردهای بین المللی و مدل های ارائه شده توسط سازمان شیلات کشور صورت گرفت (۲۱-۲۳). برای این منظور میگوها از نظر رنگ، وضعیت سرسینه و دم، وضعیت پوسته، پاها و آنتن، وضعیت چشم ها، بو، وضعیت قوام گوشت و بافت از یک تا ۱۰ بدین ترتیب امتیازبندی شدند:

امتیاز کمتر از ۴ = غیر قابل قبول، امتیاز ۶-۴ = متوسط، امتیاز ۸-۶ = خوب، امتیاز ۱۰-۸ = عالی

### آنالیز آماری

نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت سپس مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way Anova) انجام شد، جهت بررسی اختلاف معنی دار بین تیمارها از آزمون دانکن در سطح آماری ۹۵ درصد استفاده گردید. تمامی آنالیزها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام گرفت.

### نتایج

بر اساس نتایج آنالیز واریانس دو طرفه، نرخ رشد ویژه یا SGR بین تیمارهای مختلف تفاوت آماری معنی داری نشان نداد با این حال تیمار T1 بالاترین نرخ رشد ویژه را به خود اختصاص داد ( $P > 0.05$ ). این در حالیست که درصد سرعت رشد یا GR بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری را ثبت نمود ( $P \leq 0.05$ ). در میان تیمارهای آزمایشی، بیشترین درصد

سرعت رشد مربوط به تیمار T1 و به دنبال آن تیمارهای T3، T2، T4، C1 و C2 قرار داشتند. ضمن این که نرخ رشد در تمام تیمارها به طور معنی داری

از هر دو تیمار شاهد بالاتر بود. نتایج تحلیل آماری نشان داد که شاخص BWI بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری داشت ( $P \leq 0.05$ ). بالاترین مقدار میانگین شاخص BWI

متعلق به تیمار T1 و پس از آن به ترتیب تیمارهای T2، T3 و T4 قرار گرفتند. نتایج آزمون دانکن حاکی از عملکرد

متمایز تیمارهایی که از پروبیوتیک استفاده کرده بودند نسبت به گروه های شاهد بود. نتایج بررسی دو شاخص درصد افزایش وزن بدن و مجموع میانگین وزن تکرار های مختلف بین تیمارهای مورد بررسی نشان داد اختلاف معنی داری بین آنها در گروه های مختلف وجود نداشت ( $P > 0.05$ ) اما

میانگین تیمارهایی که پروبیوتیک دریافت کرده بودند از تیمارهای شاهد بیشتر بود. بررسی دو شاخص تعداد میگوها

در تیمارهای مختلف در روز صفر و در پایان هر دهه و درصد بازماندگی آنها در دهه های مختلف پرورش نشان داد سایر

تیمارها نسبت به تیمارهای شاهد نرخ بقای بالاتری داشتند بطوری که این اختلاف، اختلاف معنی داری بود ( $P \leq 0.05$ ). به

طور مشخص، تیمار T1 بالاترین مقدار را داشت و به ترتیب تیمارهای T3، T2، T4، C1 و C2 در رده های بعدی قرار

گرفتند. بررسی آماری دو شاخص میزان مصرف غذا و ضریب تبدیل غذایی نشان داد اختلاف معنی داری در هر دو

شاخص بین تیمارهای مختلف وجود داشت ( $P \leq 0.05$ )، بطوری که در شاخص ضریب تبدیل غذایی تیمار T1 بهترین

کارایی را داشت و به ترتیب تیمارهای T2، T3 و T4 در رده های بعدی قرار گرفتند و در شاخص میزان مصرف غذا

تیمار T1 و پس از آن به ترتیب تیمارهای T3، T2، T4، C1 و C2 قرار گرفتند. بر اساس آزمون دانکن، تیمارهای

جدول ۲- نتایج مربوط به شاخص های رشد و درصد بازماندگی در گروه های مورد مطالعه. حروف مشابه در یک ردیف دارای اختلاف معنی دار نمی باشند ( $P>0.05$ )

| فاکتور های مورد بررسی  | T1                    | T2                    | T3                    | T4                    | C1                    | C2                    | p-value    |
|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------|
| سرعت رشد ویژه          | $1/67 \pm 1/36^c$     | $1/52 \pm 1/24^a$     | $1/62 \pm 1/15^b$     | $1/49 \pm 1/23^c$     | $1/32 \pm 1/30^a$     | $1/17 \pm 0/63^b$     | $0/899811$ |
| درصد رشد روزانه        | $32/99 \pm 6/75^c$    | $29/36 \pm 13/72^a$   | $29/90 \pm 9/92^b$    | $24/01 \pm 8/61^c$    | $20/37 \pm 7/61^a$    | $13/93 \pm 5/43^b$    | $0/00044$  |
| افزایش وزن بدن (گرم)   | $3/30 \pm 0/68^c$     | $3/14 \pm 1/42^c$     | $2/99 \pm 0/99^c$     | $2/40 \pm 0/86^c$     | $2/04 \pm 0/76^a$     | $1/39 \pm 0/54^{ab}$  | $0/000285$ |
| درصد افزایش وزن بدن    | $54/61 \pm 61/22^a$   | $54/32 \pm 49/71^a$   | $49/08 \pm 43/04^a$   | $46/56 \pm 46/48^a$   | $40/75 \pm 22/29^a$   | $32/25 \pm 20/88^a$   | $0/874917$ |
| میانگین وزن توده (گرم) | $14/70 \pm 10/39^a$   | $12/76 \pm 8/55^a$    | $13/60 \pm 9/76^a$    | $12/02 \pm 7/93^a$    | $8/52 \pm 6/37^a$     | $6/52 \pm 4/30^a$     | $0/203823$ |
| میانگین تعداد          | $148/10 \pm 11/29^c$  | $142/30 \pm 8/47^a$   | $143/60 \pm 4/09^a$   | $137/50 \pm 17/33^c$  | $131/50 \pm 14/62^a$  | $114/50 \pm 49/38^a$  | $0/022657$ |
| درصد بازماندگی         | $99/77 \pm 0/34^c$    | $98/33 \pm 1/98^a$    | $99/08 \pm 0/76^b$    | $96/46 \pm 5/61^c$    | $96/33 \pm 1/74^a$    | $81/32 \pm 27/14^b$   | $0/011094$ |
| ضریب تبدیل غذایی       | $1/27 \pm 0/14^c$     | $1/28 \pm 0/17^a$     | $1/34 \pm 0/13^a$     | $1/39 \pm 0/13^c$     | $1/57 \pm 0/04^a$     | $1/54 \pm 0/08^a$     | $0/000002$ |
| میانگین مصرف غذا (گرم) | $815/97 \pm 454/47^b$ | $700/17 \pm 375/15^b$ | $721/87 \pm 417/05^b$ | $639/01 \pm 331/67^b$ | $399/07 \pm 200/54^b$ | $292/33 \pm 146/12^b$ | $0/013347$ |

T3 و C1) در محدوده خوب قرار داشت (در محدوده امتیاز ۶). شاخص بو و وضعیت سرسینه و دم در همه تیمار ها در رده غیرقابل قبول بود (در محدوده امتیاز ۲). بین شاخص های مختلف بین روزهای مختلف بررسی اختلاف معنی داری وجود داشت ( $P \leq 0.05$ ) در حالی که اختلاف بین تیمارها در روزهای نمونه گیری واحد معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ).

اعمال شده به طور معنی داری موجب افزایش مصرف غذا شده اند. بطور کلی نتایج نشان داد تیمارهایی که پروبیوتیک دریافت کرده اند علیرغم این که در برخی شاخص ها اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت، نسبت به تیمارهای شاهد عملکرد بهتری در شاخص های رشد و بازماندگی ثبت کردند. در میان عملکرد تیمار T1 نزدیک به تیمار T3 و با برتری نسبی همراه بود

جدول ۳ نشان دهنده ویژگی های حسی میگوهای پرورشی نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد در سه تیمار مختلف است که توسط ارزیاب های خبره انجام شده است. همانطور که مشاهده می گردد میگوهای نگهداری شده در تمامی تیمارها در روز صفر، از امتیاز عالی برخوردار بودند (در محدوده امتیاز ۱۰). این مهم در روز ۵ نیز در اکثر شاخص ها تسری یافت و همه شاخص ها بجز وضعیت چشم ها در رده عالی قرار داشتند گرچه نسبت به روز صفر امتیاز کمتری را به خود اختصاص دادند (در محدوده امتیاز ۸). در روز دهم امتیاز برخی شاخص ها مانند رنگ، قوام بافت، پاها، پوسته و آنتن در تمام تیمارها (بجز شاخص رنگ در تیمار

جدول ۳- نتایج مربوط به شاخص های حسی در گروه های مورد مطالعه که مواجهه با باکتری ویبریو همولایتیکوس نداشتند حروف مشابه در یک ردیف دارای اختلاف معنی دار نمی باشند ( $P>0/05$ )

| نوع پروبیوتیک      | T1                      | T3                      | C1                      | زمان (روز)             |
|--------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
|                    | 0                       | 5                       | 10                      | 10                     |
| رنگ                | ۱.۰ <sup>a</sup>        | ۸/۵۶ ± ۰/۵ <sup>b</sup> | ۶/۴ ± ۰/۵ <sup>c</sup>  | ۹/۹ ± ۰/۲ <sup>a</sup> |
| بو                 | ۱.۰ <sup>a</sup>        | ۸/۵۳ ± ۰/۳ <sup>b</sup> | ۲/۶ ± ۰/۴ <sup>c</sup>  | ۱.۰ <sup>a</sup>       |
| قوام بافت          | ۹/۶۶ ± ۰/۴ <sup>a</sup> | ۸/۶۳ ± ۰/۳ <sup>b</sup> | ۶/۹ ± ۰/۸ <sup>c</sup>  | ۱.۰ <sup>a</sup>       |
| چشم                | ۱.۰ <sup>a</sup>        | ۶/۶۳ ± ۰/۲ <sup>b</sup> | ۲/۴ ± ۰/۱ <sup>c</sup>  | ۱.۰ <sup>a</sup>       |
| پاها، پوسته و آنتن | ۱.۰ <sup>a</sup>        | ۸/۵ ± ۰/۷ <sup>b</sup>  | ۶/۱۶ ± ۰/۴ <sup>c</sup> | ۱.۰ <sup>a</sup>       |
| سر سینه و دم       | ۱.۰ <sup>a</sup>        | ۹/۱ ± ۰/۹ <sup>b</sup>  | ۲/۹ ± ۰/۳ <sup>c</sup>  | ۱.۰ <sup>a</sup>       |

*parahaemolyticus* را نشان دادند که عین حال مصرف خوراک و نسبت تبدیل خوراک را نسبت به گروه کنترل کاهش داد (۸). مطالعه حاضر نشان داد الگوی تیمارهای تغذیه شده با پروبیوتیک منجر به بهبود معنی دار در کارایی ضریب تبدیل غذا شده اند. البته افزایش مصرف غذا در تکرارهای مختلف تیمارهای حاوی ترکیبات پروبیوتیک بیشتر از تیمارهای شاهد بود که بنظر می رسد به دلیل کاهش تلفات و افزایش بازماندگی و بهبود شاخص های رشد در تیمارهای حاوی ترکیبات پروبیوتیک باشد. Adilah و همکاران (۲۰۲۲) با بررسی بهبود اثر بخشی پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس بر روی رشد و وضعیت سلامتی میگوی پاشیدغریبی، بهبود رشد در مقایسه با تیمار شاهد را نشان دادند (۲۵). Novriadi و همکاران (۲۰۲۲) با بررسی مکمل های غذایی حاوی پروبیوتیک های مخلوط مانند *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus reuteri* و *Bacillus subtilis* کارایی خوراک میگو را بهبود بخشیدند (۲۴). بررسی شاخص های مختلف رشد در مطالعه حاضر نیز نشان داد که بکارگیری دو مکمل پروبیوتیکی منجر به بهبود شاخص های رشد و بازماندگی نسبت به تیمارهای شاهد گردید. گرچه اثرات این دو مکمل خیلی به هم نزدیک بود اما مکمل پروبیوتیکی Bio Aqua PondV دارای اثر بهتری نسبت به Proxin بود. مکمل پروبیوتیکی Bio Aqua PondV حاوی چهار گونه باکتری و

## بحث

باکتری های گرم مثبت مانند جنس باسیلوس در میان میکروارگانیسم هایی هستند که به طور رایج به عنوان پروبیوتیک استفاده می شوند (۲۴). در این مطالعه در ترکیبات پروبیوتیکی استفاده شده هر یک حاوی دو باکتری گرم مثبت اسپوزا و دو باکتری گرم مثبت غیر اسپوزا بودند. ضمن اینکه یکی از ترکیبات حاوی جلبک پدیوکوکوس نیز بود. Ghaednia و همکاران (۲۰۲۴) در مطالعه خود در میگوهای تحت چالش با *V. parahaemolyticus* دریافتند باکتری های گرم مثبت و باکتری های شکل دهنده اسپور در بهبود برخی شاخص ها مانند سرعت رشد و ویژه و ضریب تبدیل غذایی نسبت به باکتری های گرم مثبت و غیر اسپوردار بهتر عمل کردند در حالی که درصد بازماندگی در باکتری های گرم مثبت و غیر اسپوردار بهبود بیشتری نشان داد (۲). گرچه اساس کار مطالعه حاضر مقایسه این دو گروه از باکتری ها نبود لکن نتایج بدست آمده در این تحقیق یافته اخیرالذکر را تایید نمی کند. Gruber و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که مواد افزودنی پروبیوتیک می توانند به بهبود سلامت روده میگوها کمک کنند و در نتیجه عملکرد، کارایی تولید و مقاومت در برابر بیماری ها را افزایش دهند. آن ها با افزودن پروبیوتیک به ترکیب های خوراک، افزایش معنی دار رشد و مقاومت میگوی پاشید غریبی در برابر *V.*

یک جلبک بود که بنظر می‌رسد استفاده از ترکیب باکتری و جلبک نسبت به ترکیب پروبیوتیکی صرفاً باکتری Proxin نقش بیشتری در بهبود شاخص‌های رشد و افزایش مقاومت و بهبود سیستم ایمنی در مواجهه با عامل بیماری نکروز حاد هپاتوپانکراس داشته است. مطالعاتی که اخیراً صورت گرفته نیز اذعان به تاثیر مثبت جلبک‌ها بر شاخص‌های رشد و بازماندگی دارند. Akbary و همکاران (۲۰۲۳) با بررسی سطوح مختلف عصاره ترکیبی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای مانند *Cystoseira indica*, *Sargassum ilicifolium* و *Padina australis* بر شاخص‌های رشد، ارزش غذایی و بیوشیمیایی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی میگوی پاسبید غربی نشان دادند که جلبک‌ها نقش موثری در بهبود شاخص‌های رشد و بازماندگی داشتند (۲۶). می‌توان گفت که جلبک‌های دریایی به دلیل ارزش نسبتاً پروتئین بالا، محتوای اسید آمینه ضروری، ویتامین‌ها و فلزات کمیاب به عنوان منابع پروتئینی جایگزین برای آبرزی پروری نقش دارند (۲۷). از طرفی، پروبیوتیک‌ها به عنوان یک دفاع مؤثر در برابر میکروب‌های مضر عمل می‌کنند (۸،۷). بنابراین می‌توانند به بهبود ضریب تبدیل غذایی و سایر شاخص‌های رشد و بازماندگی کمک کنند که می‌توان بهبود عملکرد آنزیم‌های گوارشی، کنترل فراوانی باکتری‌های بیماری‌زا، تعادل سیستم ایمنی و افزایش پارامترهای رشد در آبرزی پروری را از علل این امر دانست. همچنین Irianto و Austin (۲۰۰۲) معتقدند علت کاهش ضریب تبدیل غذایی را می‌توان در تحریک اشتها به وسیله پروبیوتیک‌ها جستجو کرد، به طوری که با تولید ویتامین‌ها و آنزیم‌های گوارشی نظیر پروتئازها و تجزیه ترکیبات غیر قابل هضم، شرایط تغذیه‌ای بهتری را ایجاد می‌کنند و برآیند این تغییرات موجب جذب مناسب‌تر مواد غذایی و تولید گوشت خواهد شد (۲۸). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان بقاء بین تیمارهای مختلف مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری را نشان داد، گرچه برخی مطالعات مانند مطالعه Mazlum و همکاران (۲۰۲۱) به چنین اختلاف معنی‌داری دست نیافتند (۲۹). دلیل عمده بهبود سرعت رشد ویژه به تسهیل فعالیت‌های آنزیمی و کمک به هضم بهتر را می‌توان به‌واسطه

تولید آنزیم‌های خارجی توسط باکتری‌های به کار رفته، همراه با افزایش فعالیت آنزیمی، تولید ویتامین B12 و به دنبال آن کوآنزیم‌های مرتبط با چرخه تولید انرژی دانست (۳۰). برخلاف یافته‌های Ghaednia و همکاران (۲۰۲۴)، پروبیوتیک‌های تک سویه (mono-strain) پس از چالش با *V. parahaemolyticus* منجر به افزایش درصد بازماندگی بیش از پروبیوتیک‌های چند سویه (multi-strain) شدند (۲۵،۱۸٪ در مقابل ۱۳،۲۵٪) (۲)، در حالی که نتایج Toledo و همکاران (۲۰۱۹) در خصوص عملکرد پروبیوتیک‌ها بر روی رشد و بازماندگی میگوها چنین یافته‌ای را تایید نکرد (۳۱). مطالعه حاضر هم نشان داد ترکیبات پروبیوتیکی با چند سویه باکتری توانست تاثیرات مثبت مهمی بر رشد و بازماندگی میگوها داشته باشد. با توجه به نتایج اکثر مطالعات انجام‌شده در مورد اثر پروبیوتیک‌ها بر SGR، FCR و SR، می‌توان نتیجه گرفت که مصرف به‌صورت مخلوط در غذا یا اسپری روی خوراک نسبت به تجویز از طریق آب در خصوص همه متغیرها می‌تواند اثر بهتری داشته باشد و افزودن پروبیوتیک‌ها به خوراک می‌تواند پرسودتر باشد، زیرا سویه‌های پروبیوتیک می‌توانند به‌طور مستقیم هضم و جذب مواد مغذی در روده میگو را تنظیم کنند (۳۲).

میگو از جمله آبزیانی است که در مقابل جابجایی، حمل و نقل، ضربه و فشار از مقاومت پایینی برخوردار است به همین دلیل پس از صید میگو، باید هر چه سریع‌تر کارهای لازم مانند سرد کردن اولیه، شستشو با آب بهداشتی، بسته‌بندی و غیره انجام شود تا از فعل و انفعالات شیمیایی، آنزیمی و میکروبی جلوگیری شود. تغییرات مشاهده شده در ویژگی‌های بافتی را می‌توان به مجموعه‌ای از فرآیندهای فیزیکی و شیمیایی نسبت داد که در طول نگهداری در بافت عضله رخ می‌دهند. دنا تورا سیون تدریجی پروتئین‌های میوفیبریلار، اکسیداسیون پروتئین‌ها و تغییر در برهم‌کنش‌های بین مولکولی می‌توانند باعث تغییر در ویژگی‌های رئولوژیکی بافت شوند. علاوه بر این، تغییرات در محتوای رطوبت و توزیع آب در بافت عضله می‌تواند نقش مهمی در تعیین خصوصیات فیزیکی و حسی محصول داشته باشد. با وجود اهمیت تغذیه‌ای و تجاری،

ساختاری لیپید و پروتئین در تمامی نمونه‌ها مشابه شده و ویژگی‌های اولیه تغذیه‌ای اثرات کمتری بر رفتار اکسیداتیو دارند. به عبارت دیگر بکارگیری ترکیبات پروبیوتیکی در تغذیه میگوها نمی‌تواند تاثیر معنی‌داری بر کاهش روند فساد میکروبی و شیمیایی داشته باشد بنابراین تغییرات حسی و ارگانولیتیک در بین تیمارهایی که از پروبیوتیک بهره گرفته‌اند و گروه شاهد، تقریباً در محدوده‌های مشابهی رخ می‌دهد. چنین پدیده‌ای در مطالعه در مقایسه میان سه تیمار مورد بررسی کاملاً مشهود بود که تغییرات رخ داده از نظر شاخص‌های حسی در روزهای یکسان در میان سه تیمار مورد آزمایش تفاوت چندانی نداشت که مطالعه Pellegrini و همکاران (۲۰۲۵) را تایید می‌کند. این در حالی است که برخی مطالعات در خصوص استفاده از پوشش‌هایی مانند کیتوزان یا عصاره‌های جلبکی در زمان نگهداری پس از صید محصولات آبرزی حاکی از آن است که استفاده از این ترکیبات می‌تواند تاثیر چشمگیری در کاهش فعالیت‌های میکروبی و شیمیایی داشته باشد (۳۶،۳۷)

### نتیجه گیری

متأسفانه یکی از معضلات اخیر صنعت پرورش میگوی کشور، آلودگی مزارع پرورش میگو خصوصاً در مراحل ابتدایی ورود پست لاروها به مزارع پرورشی به بیماری AHPND می‌باشد که خسارات زیادی را به پرورش دهندگان وارد کرده است. در این بین تحقیقات نشان داده است استفاده از ترکیبات تقویت کننده سیستم ایمنی می‌تواند تأثیر چشمگیری در افزایش سطح ایمنی و مقاومت میگوها در مواجهه با این بیماری داشته باشد. مطالعه حاضر نشان داد استفاده از مکمل پروبیوتیکی علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد و نرخ بازماندگی میگوها، میزان تلفات آن‌ها را در مواجهه با بیماری نکروز حاد هپاتوپانکراس نسبت به تیمارهای شاهد کاهش داد. بررسی شاخص‌های حسی نشان داد استفاده از ترکیبات پروبیوتیکی نمی‌تواند محصول صید شده را از فساد میکروبی و شیمیایی در دمای یخچال محافظت نماید و می‌توان از ترکیبات پروبیوتیکی یا مشابه به عنوان پوشش برای افزایش ماندگاری بهره گرفت. با این حال برای

میگوها از جمله فسادپذیرترین فرآورده‌های دریایی محسوب می‌شوند. در نتیجه، کیفیت میگو ممکن است در طول مراحل جابجایی و توزیع پس از برداشت به سرعت کاهش یابد که این امر منجر به از دست رفتن تدریجی تازگی، ایجاد بوهای نامطبوع و کاهش مقبولیت حسی می‌شود. فعالیت آبی بالا، pH خنثی و فراوانی ترکیبات نیتروژنی غیرپروتئینی محلول در آب، از جمله تری‌متیل‌آمین اکسید (TMAO)، آدنوزین تری‌فسفات (ATP) و اسیدهای آمینه آزاد، می‌توانند شرایط مساعدی را برای رشد سریع میکروبی و تخریب آنزیمی بلافاصله پس از برداشت میگو فراهم کنند. این ویژگی‌های بیوشیمیایی، در ترکیب با حضور آنزیم‌های درون‌زا و میکروبیوتای موجود در طبیعت، میگو را در طول دوره نگهداری به شدت مستعد فساد سریع می‌کند. کاهش کیفیت میگو فرآیندی پیچیده و چندعاملی است که هم واکنش‌های آنزیمی درون‌زا و هم فعالیت‌های میکروبی را شامل می‌شود. بلافاصله پس از مرگ، فرایندهای خودتجزیه‌ای (اتولیتیک) غالب می‌شوند و باعث تخریب پروتئین‌های عضلانی و نوکلئوتیدها می‌گردند. این امر منجر به تشکیل ترکیباتی می‌شود که ممکن است متعاقباً به عنوان پیش‌ماده (سوبسترا) برای متابولیسم میکروبی عمل کنند. با پیشرفت زمان نگهداری، میکروارگانیسم‌های خاص فسادکننده به محرک‌های اصلی تخریب کیفیت تبدیل می‌شوند و متابولیت‌های فرار و غیرفراری تولید می‌کنند که مسئول عیوب حسی مانند بوهای نامطبوع، تغییرات طعم و تخریب بافت هستند. از جمله میکروارگانیسم‌هایی که اغلب در طول نگهداری در دمای سرد با فساد محصولات دریایی مرتبط هستند، می‌توان به گونه‌های *Shewanella*، *Pseudomonas*، *Photobacterium*، *Brochothrix thermosphacta* و *phosphoreum* اشاره کرد (۳۳-۳۵). مشهود نبودن تغییرات شاخص‌های حسی در روند نگهداری میگوها میان تیمار شاهد و تیمارهایی که قبل از زمان صید از ترکیبات پروبیوتیکی استفاده کرده‌اند، بیانگر غالب شدن فرآیندهای عمومی بیوشیمیایی پس از مرگ است. این پدیده معمولاً زمانی رخ می‌دهد که نرخ تغییرات

ارزیابی دقیق اثر پروبیوتیک‌ها بر فساد میکروبی و شیمیایی،  
ارزیابی حسی کافی نبوده و منوط به بررسی‌های آزمایشگاهی

در خصوص اثرات پروبیوتیک‌ها از جنبه‌های یاد شده  
می‌باشد.

## منابع

1. Tacon AG. Trends in global aquaculture and aquafeed production: 2000–2017. Reviews in Fisheries Science and Aquaculture. 2020; 28(1): 43-56. DOI: 10.1080/23308249.2019.1649634
2. Ghaednia B, Mirbakhsh M, Kakoolaki S. Effects of bacterial probiotics interventions on acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp: A meta-analysis, Iranian Journal of Fisheries Sciences. 2024; 23(1):61-83. DOI: 10.22092/ijfs.2024.130825
3. Kumar V, Roy S, Meena DK, Sarkar UK. Application of probiotics in shrimp aquaculture: importance, mechanisms of action, and methods of administration. Reviews in Fisheries Science and Aquaculture. 2016; 24(4): 342-368. DOI:10.1080/23308249.2016.1193841
4. Kumar V, Roy S, Behera BK, Bossier P, Das BK. Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND): Virulence, Pathogenesis and Mitigation Strategies in Shrimp Aquaculture. Toxins (Basel). 2021; 13(8): 5-24. DOI:10.3390/toxins13080524
5. Merrifield DL, Dimitroglou A, Foey A, Davies SJ, Baker RTM, Bogwald J, Castex M, Ringo E. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. Aquaculture. 2010; 302: 1-18.
6. Butt UD, Lin N, Akhter N, Siddiqui T, Li S, Wu, B. Overview of the latest developments in the role of probiotics, prebiotics and synbiotics in shrimp aquaculture. Fish and Shellfish Immunology. 2021; 114(1-4): 263-281.
7. Mirbakhsh M, Ghaednia B, Zorriehzahra MJ, Esmaili F, Faggio C. Dietary mixed and sprayed probiotic improves growth performance and digestive enzymes of juvenile whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931). Journal of Applied Aquaculture. 2023; 35(3): 823-836. DOI: 10.1080/10454438.2022.2032528
8. Gruber C, Bui-Chau-Truc D, Kesselring JC, Nguyen ND, Standen B, Wein S. Diet Independent Positive Effects of a Multi-Species Probiotic on the Growth Performance and Resistance against *Vibrio parahaemolyticus* in White Leg Shrimp. Animals. 2023; 13(3): 331-338
9. Lazado CC, Caipang CMA. Mucosal immunity and probiotics in fish. Fish and Shellfish Immunology. 2014; 39: 78-89.
10. Iyapparaj P, Maruthiah T, Ramasubburayan R, Prakash S, Kumar C, Immanuel G, Palavesam A. Optimization of bacteriocin production by *Lactobacillus* sp. MSU3IR against shrimp bacterial pathogens. Aquatic Biosystems. 2013; 9(12): 1-10.
11. Fu LL, Wang Y, Wu ZC, Li WF. In vivo assessment for oral delivery of *Bacillus subtilis* harboring a viral protein (VP28) against white spot syndrome virus in *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. 2011; 322-323: 33-38.
12. Wang FI, Chen JC. The immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* under temperature stress. Aquaculture. 2006; 258: 34-41.
13. Saurabh S, Sahoo PK. Lysozyme: an important defense molecule of fish innate immune system. Aquaculture Research. 2008; 39: 223-239.
14. Moriarty DJW. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. Aquaculture. 1998; 164(1): 351-358.
15. Bagheri T, Hedayati SA, Yavari V, Alizade M, Farzanfar A. Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 2008; 8(1): 43-48.
16. Brock JA, Main KLA. Guide to the Common Problems and Diseases of Cultured *Penaeus vannamei*. Incorporation of medications into Growout Feeds. Baton Rouge, LA: World Aquaculture Society. 1994; 242 p.
17. Gisbert E, Williot P. Larval behavior and effect of timing of initial on growth and survival of Siberian sturgeon larvae under small scale hatchery production. Aquaculture. 1997; 156: 63-76.

18. Abdollahi Arpanahi D, Jafaryan H, Soltani M, Gholipour Kanani H. The effect of *Bacillus* probiotics on the growth performance, survival rate and stress resistance of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) post larvae. *Journal of Fisheries Science and Technology*. 2014; 3: 33-45.
19. Castex M, Lemaire P, Wabete N, Chim L. 2009. Effect of dietary probiotic *Pediococcus acidilactici* on antioxidant defences and oxidative stress status of shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Aquaculture*. 2009; 294: 306-313.
20. Seenivasan C, Radhakrishnan S, Shanthi R, Muralisankar T, Bhavan S. Effect of *Lactobacillus sporogenes* on survival, growth, biochemical constituents and energy utilization of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post larvae. *The Journal of Basic and Applied Zoology*. 2014; 67(2): 19-24.
21. Prashideh N, Alizadeh Doghiklai A, Mohammadi M. The effect of freezing time on the quality of farmed Vanami shrimp. *Journal of Food Science Industry*. 2014; 12(38): 1-12.
22. Seifzadeh M, Khanipour AA, Moradi Y. The effect of hexyl resorcinol concentration on chemical, bacterial, sensory changes and the shelf life of frozen cultured western white shrimp. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 2014; 24(4): 209-195.
23. Salehi S, Khodanazari A, Zamani A. Comparison of qualitative changes of *Metapenaeus affinis* shrimp with skin during storage in ice and refrigerator. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 2017; 27(4): 136-123.
24. Novriadi R, Prihadi T, Saragih H, Standen B, Kesselring J. Well defined multi-species probiotic and enzyme combination outperforms traditional fermented probiotic applications in an intensive pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) Culture System. *Journal of World Aquaculture Society*. 2022; 54(1): 156-166.
25. Adilah RN, Chiu ST, Hu SY, Ballantyne R, Happy N, Cheng AC, Liu CH. Improvement in the probiotic efficacy of *Bacillus subtilis* E20-stimulates growth and health status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* via encapsulation in alginate and coated with chitosan. *Fish and shellfish Immunology*. 2022; 125 (4): 74-83.
26. Akbary P, Ajdari A, Ajang B. Growth, survival, nutritional value and phytochemical, and antioxidant state of *Litopenaeus vannamei* shrimp fed with premix extract of brown *Sargassum ilicifolium*, *Nizimuddinina zanardini*, *Cystoseira indica*, and *Padina australis* macroalgae. *Aquaculture International*. 2023; 31(1): 681-701.
27. Zhang Z, Shi X, Wu Z, Wu W, Zhao Q, Li E. Macroalgae Improve the Growth and Physiological Health of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Nutrition*. 2023; 8829291.
28. Irianto A. and Austin B. Probiotics in aquaculture: Reviews. *Journal of Fish Diseases*. 2002; 25: 633-642.
29. Mazlum Y, Yazıcı M, Sayın S, Habiboğlu O, Uğur S. 2021. Effects of two different macroalgae (*Ulva lactuca* and *Jania rubens*) species on growth and survival of juvenile red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) as feed additive. *Marine Science and Technology Bulletin*. 2021; 10(2): 154-162.
30. Ghosh K, Sen SK, Ray AK. Growth and survival of Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) spawn fed diets supplemented with fish intestinal microflora. *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*. 2002; 32(1): 83-92.
31. Toledo A, Frizzo L, Signorini M, Bossier P, Arenal A. Impact of probiotics on growth performance and shrimp survival: A meta-analysis. *Aquaculture*. 2019; 500: 196-205. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.10.018
32. Amiin MK, Lahay AF, Putriani RB, Reza M, Putri SME, Sumon MAA, et al., The role of probiotics in vannamei shrimp aquaculture performance - A review. *Veterinary World*. 16(3): 638-649 DOI:10.14202/vet world,2023.638-649
33. Pellegrini M, Andyanto D, Iacumin L, Comi G. Evaluation of Total Volatile Basic Nitrogen, Formaldehyde, and Formic Acid as Markers to Define the Acceptability of

- Farmed Sea Bass and Sea Bream Stored Under Vacuum (VP) or in Modified-Atmosphere Packaging (MAP) at  $4 \pm 2$  °C. Microorganisms. 2025; 13: 2774
34. Carrascosa, C.; Millian, R.; Saavedra, P.; Jaber, J.R.; Raposo, A.; Pérez, E.; Montenegro, T.; Sanjuán, E. Microbiological evolution of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) in Canary Islands during ice storage. Journal of Food Science and Technology. 2015; 52: 1586–1593
35. Broekaert K, Heyndrickx M, Herman L, Devlieghere F, Vlaemynck G. Seafood quality analysis: Molecular identification of dominant microbiota after ice storage on several general growth media. Food Microbiology. 2011; 28: 1162–1169
36. Pabast M, Shariatifar N, Beikzadeh S, Jahed G. Effects of chitosan coatings incorporating with free or nanoencapsulated Satureja plant essential oil on quality characteristics of lamb meat. Food Control. 2018; 91: 85–192. DOI: 10.1016/j.foodcont.2018.03.047
37. Maghami M, Motalebi AA, Anvar SAA. 2019. Influence of chitosan nanoparticles and fennel essential oils (*Foeniculum vulgare*) on the shelf life of *Huso huso* fish fillets during the storage. Food Science and Nutrition. 2019; 7: 3030–3041. DOI: 10.1002/fsn3.1161.