



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 8, No. 4, 2023, pages: 55-64
DOI: 10.22124/janb.2023.24125.1196



Effect of water containing *Lactobacillus rhamnosus* PTCC 1637 on survival rate and water quality for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerling

Masoumeh Machanlou*, Ali Hajibeglou, Abdolmajid Hajimoradloo

Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan
University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran

Received 11 September 2022

Revised 08 December 2022

Accepted 11 December 2022

KEYWORDS

Lactobacillus
rhamnosus
Oncorhynchus
mykiss
Survival
Quality water

ABSTRACT

As an alternative to chemicals and antibiotics, probiotics have proven to be effective in promoting successful aquaculture. They can improve water quality and generate high-quality livestock. The current study aimed to investigate the effect of adding *Lactobacillus rhamnosus* PTCC 1637 to the rearing water on survival rate and water quality during spawning on juvenile stages of rainbow trout of *Oncorhynchus mykiss*. This study has been implemented in three groups (1: eyed eggs, 2: alevin, and 3: fry) and three treatments (1×10^6 , 1×10^7 bacteria per mL of water, and a control group). The abovementioned bacterial concentrations in group 1 were added on the days 1, 3, and 5; in group 2, every other day; and in group 3, from the days 1 to 20 on every other day, and from 20 to 60 once every four days. The results showed that the direct addition of *L. rhamnosus* to the rearing water improved the water quality parameters (DO, pH, ammonia and ammonium; $p < 0.05$). Also, according to the results of the second part, the highest survival rate (%) was observed in the eyed egg group (the days 1-20). The highest survival rate in the third part was found in the treatments receiving bacteria in the eyed egg (the days 1-60) and alevin (the days 8-60) groups. In general, the use of bacteria in the eyed eggs group (10^7 CFU/mL) that received bacteria from the first day exhibited a more favorable result. Finally, probiotics added directly into the rearing water is an effective method that causes increases survival and improves water quality parameters in *O. mykiss*.

*Corresponding author: machanlou@gmail.com





"مقاله پژوهشی"

اثر آب حاوی *Lactobacillus rhamnosus* PTCC 1637 بر بازماندگی و کیفیت آب بچه ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

معصومه ماچانلو*، علی حاجی بگلو، عبدالمجید حاجی مرادلو

گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۹/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۰

کلمات کلیدی

چکیده

Lactobacillus rhamnosus
Oncorhynchus mykiss

پروبیوتیک‌ها به عنوان جایگزینی برای مواد شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها ثابت کرده‌اند که در ارتقای آبی‌پروری موفق مؤثر بوده‌اند، زیرا دارای توان بالقوه بهبود کیفیت آب و افزایش کیفیت ذخایر تولیدی هستند. هدف این تحقیق بررسی اثر آب حاوی *Lactobacillus rhamnosus* PTCC 1637 بر بازماندگی و کیفیت آب تخم چشم‌زده تا بچه‌ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بود. این بررسی در سه بخش ۱: تخم چشم‌زده، ۲: آلوین و ۳: بچه ماهی با غلظت‌های 1×10^6 و 1×10^7 CFU/mL (یاخته باکتری در میلی‌لیتر آب پرورش) انجام شد. گروه شاهد باکتری دریافت نکرد. غلظت‌های مذکور از باکتری، در بخش ۱ در روزهای ۱، ۳ و ۵؛ در بخش ۲ به صورت دو روز در میان و در بخش ۳ از روز ۱ تا ۲۰ یک روز در میان و از روز ۲۰ تا ۶۰ هر ۴ روز یک بار به آب افزوده شد. نتایج نشان داد که افزودن مستقیم *L. rhamnosus* به آب پرورشی *O. mykiss* باعث بهبود فراسنجه‌های کیفی آب (اکسیژن، pH، آمونیاک و آمونیوم) شد ($p < 0.05$). همچنین، نتایج بخش دوم نشان داد که بیشترین درصد بازماندگی را گروه تخم چشم‌زده (روز ۱ تا ۲۰) داشتند. بیشترین بازماندگی در بخش سوم در تیمارهای دریافت‌کننده باکتری در گروه تخم چشم‌زده (روز ۱ تا ۶۰) و آلوین (روز ۸ تا ۶۰) مشاهده شد. در مجموع، استفاده از باکتری در گروه تخم‌های چشم‌زده (10^7 CFU/mL) که از روز اول باکتری دریافت کرده بودند، نتیجه مطلوب‌تری را نشان داد. در نهایت افزودن مستقیم پروبیوتیک به آب پرورشی شیوه‌ای اثرگذار بوده و موجب افزایش بازماندگی و بهبود فراسنجه‌های کیفی آب قزل آلاهی رنگین کمان می‌شود.

بازماندگی

کیفیت آب

مقدمه

آبزی پروری در دو دهه اخیر توانسته است با شتاب زیادی در بسیاری از کشورهای جهان توسعه یابد، هرچند شیوع طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها خسارات ویرانگر اقتصادی زیادی در پی داشته است. در صنعت آبزی پروری، تمرکز اصلی بر روی استفاده از داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها بوده است (Hai, 2015). با وجود این، استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به ایجاد باکتری‌های مقاوم به دارو شده که کنترل و از میان بردن آنها به طور فزاینده‌ای دشوار می‌شود. بنابراین، استفاده از پروبیوتیک‌ها در پرورش موجودات آبزی به‌عنوان دوستدار محیط زیست افزایش یافته است. پروبیوتیک‌ها به‌عنوان ریزموجودات زنده وقتی به مقدار کافی مصرف شوند، اثرات سودمندی بر میزبان داشته و با تغییر جمعیت میکروبی به سمت میکروب‌های مفید، باعث بهبود راندمان استفاده از مواد مغذی، افزایش ارزش تغذیه‌ای خوراک‌ها می‌شوند. با وجود این، در آبزی پروری، پروبیوتیک‌ها را می‌توان به‌عنوان مکمل غذایی یا به‌عنوان یک افزودنی به آب تجویز کرد (Silva et al. 2012).

علاوه بر این، استفاده از پروبیوتیک‌ها باعث بهبود کیفیت آب، کاهش بروز بیماری‌ها با افزایش پاسخ ایمنی میزبان و بازماندگی بیشتر می‌شود (Balcázar et al. 2006; Carnevali et al. 2013; Hamdan et al. 2016). باکتری‌های اسید لاکتیک (مثل *Lactobacillus* sp.) به‌عنوان عوامل کنترل زیستی به‌طور گسترده در آبزی پروری استفاده می‌شوند (Balcázar et al. 2006). برای اولین بار دایر (۱۹۴۷) لاکتوباسیلوس‌ها را از سطح پوست، آبشش و مجرای گوارشی ماهی کاد اطلس (*Gadus morhua*) جدا کرد. سپس، دیگر محققان برخی از گونه‌های لاکتوباسیلوس را از روده بیشتر ماهیان استخوانی در تمام مراحل زندگی (نوزادی، انگشت قد و بالغ) جدا کردند (De LeBlanc et al. 2010). یکی از اعضای مهم جنس لاکتوباسیلوس، گونه *Lactobacillus rhamnosus* است. *L. rhamnosus* از پروبیوتیک‌هایی است که کاربرد آن‌ها در سال‌های گذشته برای ارتقای رشد، بازماندگی و بهبود دستگاه ایمنی در ماهیان موفق بوده است (Segers and Lebeer, 2014).

Moriarty (۱۹۹۸) تعریف گسترده‌ای از پروبیوتیک‌ها به عنوان «افزودنی‌های آب» پیشنهاد داد. باکتری *Bacillus* spp. و *Rhodo pseudomonas palustris* به‌عنوان

باکتری‌های پاک‌کننده آب ثبت شده اند (Zhou et al. 2010). برای مثال Zhang و همکاران (۲۰۱۳) *Bacillus subtilis* SC02 را به میزان 10^9 CFU/mL $1 \times$ به مدت ۷ روز و هر روز دو بار به آب پرورشی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idellus*) اضافه کردند که به طور قابل توجهی سطح آمونیاک، نیتريت و نیتروژن کل آب را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد. همچنین Lauzon و همکاران (۲۰۱۰) سه سویه باکتری (*Carnobacterium divergens* V41) و *Arthrobacter* sp. و *Enterococcus* sp. از مرحله تخم به میزان 10^7 CFU/mL $1 \times$ و مرحله نوزادی به میزان 10^6 CFU/mL $1 \times$ به مدت ۳۸ روز ۸ بار به آب ماهی کاد اضافه، و در نهایت گزارش کردند که بازماندگی و تحمل به تنش به طور قابل توجهی نسبت به گروه شاهد افزایش یافت.

قزل‌آلی رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از مهم‌ترین گونه‌های تجاری آزادماهیان در ایران است. از نکات مهم در پرورش این ماهی مدیریت صحیح تغذیه و بالا بردن درصد بازماندگی است (Sugiura et al. 2000). اصولاً فنون و وسایلی که بتوانند توانایی نوزاد ماهیان را در بالا بردن تغذیه آغازین بهبود بخشند، بسیار مهم و ضروری هستند، زیرا یکی از مشکلات موجود در پرورش این ماهی، پرورش در مرحله اولیه زندگی است که همواره با تلفات نسبتاً بالایی همراه است (Hajibeglou and Sudagar, 2018).

تا به امروز، غربالگری سویه‌ها با ویژگی درمانی مناسب همراه با تأثیر آنها بر بازماندگی و مقاومت به بیماری، هنوز هم یک گام اساسی در جهت توسعه عوامل میکروبی تجاری است. هدف اصلی این مطالعه، به‌دست آوردن اطلاعات در مورد بازماندگی و فراسنجه‌های کیفی آب مورد استفاده برای پرورش قزل‌آلی رنگین‌کمان، در پاسخ به پروبیوتیک *L. rhamnosus*، به‌عنوان افزودنی آب بود.

مواد و روش‌ها

باکتری مورد استفاده: باکتری *L. rhamnosus* مورد استفاده در این طرح به شکل لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری و برای مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت MRS Broth (آلمان، Merck®) و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد. پس از رشد

برای این منظور نمونه‌برداری از آب در ظروف شیشه‌ای سترون انجام شد. میانگین دما، اکسیژن محلول و pH با استفاده از دستگاه دیجیتالی (Horiba U10, Japan) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری آمونیاک و آمونیوم از کیت آزمایشگاهی (پارس آزمون) استفاده شد.

بخش دوم: آلومین (نوزادان تفریخ شده تا زمان تغذیه فعال): تیمارهای این بخش از آزمایش ۵ گروه شامل گروه شاهد (هیچ‌گونه پروبیوتیکی دریافت نکردند)، گروه تخم چشم‌زده: تیماری که از مرحله تخم‌چشم‌زده تا تغذیه فعال از طریق آب در معرض لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت 10^6 CFU/mL قرار گرفته بودند (روز ۱ تا ۲۰)، و تیماری که از مرحله تخم‌چشم‌زده تا تغذیه فعال از طریق آب در معرض لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت 10^7 CFU/mL قرار گرفته بودند (روز ۱ تا ۲۰)؛ گروه آلومین: تیماری که از مرحله نوزادان تفریخ شده تا تغذیه فعال از طریق آب در معرض لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت 10^6 CFU/mL قرار گرفته بودند (روز ۸ تا ۲۰)؛ و تیماری که از مرحله نوزادان تفریخ شده تا تغذیه فعال از طریق آب در معرض لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت 10^7 CFU/mL قرار گرفته بودند (روز ۸ تا ۲۰).

آلومین‌ها با تراکم 650 عدد در هر سبد (40×40 سانتی‌متر مربع) در ترفاه‌های کالیفرنایی با ۳ تکرار در یک ترفاه قرار داده شدند. سپس تعلیق (سوسپانسیون) باکتریایی لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت‌های تعیین شده به صورت دو روز در میان به آب اضافه شد. در این بخش، پس از افزودن باکتری به آب در هر نوبت، جریان آب ورودی به مدت ۲ ساعت متوقف شد، و سپس جریان آب برقرار شد (Lauzon et al. 2010).

اندازه‌گیری شاخص‌های مورد مطالعه: در این بخش درصد بازماندگی، درصد ناهنجاری‌های ریختی و فراسنجه‌های کیفی آب (دما، اکسیژن، pH، آمونیاک و آمونیوم) مشابه بخش اول بررسی شد.

باکتری، برای حذف محیط کشت در سانتی‌فیوژ یخچالدار (R5810, Eppendorf, Germany) با دمای 4 درجه سانتی‌گراد و گردش 5000 دور در دقیقه گذاشته شد. رسوب حاصله سه بار با سرم فیزیولوژی استریل، شستشو و در مرحله آخر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (T80, PG Instrument, England) در طول موج 620 نانومتر، سوسپانسیون باکتریایی با غلظت 10^6 CFU/mL و بر مبنای نیم‌مک‌فارلند آماده شد (Ahmadnia-Motlagh et al. 2017).

طراحی آزمایش: این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در سه بخش آزمایشی به مدت ۲ ماه انجام شد. میانگین دما در مخازن پرورشی در طی دوره پرورش ۱۱ درجه سانتی‌گراد، جریان آب تازه $0/5$ لیتر در دقیقه و دبی ورودی 30 لیتر در دقیقه (بازچرخش آب) با هوادهی مناسب منطبق بر شرایط استاندارد پرورشی تنظیم شد (Lauzon et al. 2010).

بخش اول: تخم چشم‌زده (مرحله تخم چشم‌زده تا تفریخ کامل): تیمارهای این بخش از آزمایش ۳ گروه شامل:

گروه شاهد (هیچ‌گونه پروبیوتیکی دریافت نکردند)،

گروه تخم چشم‌زده: تیماری که از مرحله تخم‌چشم‌زده تا تفریخ کامل از طریق آب در معرض لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت 10^6 CFU/mL قرار گرفته بودند و تیماری که از مرحله تخم‌چشم‌زده تا تفریخ کامل از طریق آب در معرض لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت 10^7 CFU/mL قرار گرفته بودند.

در این بخش تخم‌های چشم‌زده با تراکم 750 قطعه تخم در هر سبد (40×40 سانتی‌متر مربع) در ترفاه‌های کالیفرنایی با ۳ تکرار در یک ترفاه قرار داده شدند. سپس سوسپانسیون باکتریایی لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت‌های تعیین شده در روزهای ۱، ۳ و ۶ به آب اضافه شد. پس از افزودن باکتری به آب در هر نوبت، جریان آب ورودی به مدت ۳۰ دقیقه متوقف، و سپس جریان آب برقرار شد (Lauzon et al. 2010).

اندازه‌گیری شاخص‌های مورد مطالعه: فراسنجه‌های کیفی آب (دما، اکسیژن، pH، آمونیاک و آمونیوم) اندازه‌گیری شد.

(Weber and Weber, 2020) $100 \times$ (تعداد بچه‌ماهی انتهای دوره - تعداد بچه‌ماهی ابتدای دوره) = درصد بازماندگی

(Ghosh et al. 2007) $100 \times$ (تعداد کل نوزادان متولد شده / تعداد کل نوزادان معیوب) = درصد نوزادان معیوب

روز یکبار به آب اضافه شد. در این گروه، پس از افزودن باکتری به آب در هر نوبت، جریان آب ورودی به مدت ۲ ساعت متوقف، و سپس جریان آب برقرار شد (Lauzon et al. 2010). بچه ماهیان ۴ بار در روز به میزان ۰.۶٪ وزن بدن با خوراک آغازین (شرکت ۲۱ بیضا، شیراز) تا رسیدن به وزن حدود ۳ گرم تغذیه شدند (Taylor et al. 2006).

اندازه‌گیری شاخص‌های مورد مطالعه: در این بخش درصد بازمندگی و فراسنجه‌های کیفی آب (دما، اکسیژن، pH، آمونیاک و آمونیوم) مشابه بخش اول اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها: از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه برای مقایسه میانگین بین تیمارها و از آزمون دانکن برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها (در سطح اعتماد ۰.۰۵٪) با نرم‌افزار آماری SPSS 22 استفاده شد.

نتایج

فراسنجه‌های کیفی آب: فراسنجه‌های کیفی آب در تیمارهای آزمایشی دریافت‌کننده باکتری نسبت به گروه شاهد نتایج مطلوب‌تری را نشان داد. اکسیژن محلول در آب در تیمارهای دریافت‌کننده باکتری افزایش یافت ($p < 0.05$). اسیدیته (pH)، آمونیاک و آمونیوم در تیمارهای دریافت‌کننده باکتری نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد ($p < 0.05$). به طور کلی، نتایج حاصل از ثبت فراسنجه‌های کیفی آب در طول آزمایش نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری بین مخازن پرورشی تیمارهای آزمایشی وجود ندارد (جدول ۱).

بخش سوم: بچه ماهی (تغذیه فعال تا بچه ماهی با وزن حدود ۳ گرم): تیمارهای این بخش از آزمایش ۷ گروه شامل:

تیمار شاهد (پروبیوتیک دریافت نکرد)،

گروه تخم چشم‌زده: تیماری که از مرحله تخم‌های چشم‌زده تا بچه ماهی (روز ۱ تا ۶۰) از طریق آب در معرض لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت CFU/mL 10^6 قرار گرفته بودند؛ تیماری که از مرحله تخم‌های چشم‌زده تا بچه ماهی (روز ۱ تا ۶۰) از طریق آب در معرض لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت CFU/mL 10^7 قرار گرفته بودند؛ گروه آلومین: تیماری که از مرحله نوزادان تفریح شده تا بچه ماهی (روز ۸ تا ۶۰) از طریق آب در معرض لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت CFU/mL 10^6 قرار گرفته بودند؛ تیماری که از مرحله نوزادان تفریح شده تا بچه ماهی (روز ۸ تا ۶۰) از طریق آب در معرض لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت CFU/mL 10^7 قرار گرفته بودند،

گروه بچه‌ماهی: تیماری که از مرحله تغذیه فعال تا بچه ماهی (روز ۲۰ تا ۶۰) از طریق آب در معرض لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت CFU/mL 10^6 قرار گرفته بودند و تیماری که از مرحله تغذیه فعال تا بچه ماهی (روز ۲۰ تا ۶۰) از طریق آب در معرض لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت CFU/mL 10^7 قرار گرفته بودند.

بچه ماهیان با تراکم 10.5×40 قطعه در هر سبب (40×40 سانتی متر مربع) در تراف‌های کالیفرنایی با ۳ تکرار در یک تراف قرار داده شدند. سپس سوسپانسیون باکتریایی لاکتوباسیلوس رامنسوس با غلظت‌های تعیین شده از روز ۱ تا ۲۰ به صورت یک روز در میان و از روز ۲۰ تا ۶۰ هر ۴

جدول ۱ میانگین فراسنجه‌های آب در طی آزمایش در بخش اول، دوم و سوم.

بچه ماهی	آلومین	تخم	شاهد	فراسنجه‌ها
9 ± 0.28^a	9 ± 0.34^a	9 ± 0.44^a	6 ± 0.14^b	اکسیژن (mg/L)
11 ± 0.03^a	11 ± 0.03^a	11 ± 0.02^a	11 ± 0.01^a	دما (°C)
$7/51 \pm 0.54^b$	$7/5 \pm 0.34^b$	$7/51 \pm 0.44^b$	$9/58 \pm 0.9^a$	pH
0.026 ± 0.005^b	0.025 ± 0.003^b	0.025 ± 0.003^b	0.05 ± 0.009^a	آمونیاک (mg/L)
0.124 ± 0.005^b	0.124 ± 0.004^b	0.125 ± 0.006^b	0.8 ± 0.44^a	آمونیم (mg/L)

* داده‌های ارائه شده در هر ستون با حروف غیر مشترک با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ($p < 0.05$).

اول باکتری دریافت کرده بودند، بیشترین درصد بازماندگی و کمترین تلفات را داشتند ($p < 0/05$). از سوی دیگر، درصد ناهنجاری در هیچ یک از تیمارها تفاوت معنی دار با گروه شاهد نشان نداد ($p > 0/05$; جدول ۲).

نتایج حاصل از این آزمایش در بخش ۲ (آلومین تا تکمیل شنای فعال) نشان داد که بیشترین میزان بازماندگی در گروه‌هایی که از پروبیوتیک تغذیه کردند، مشاهده شد ($p < 0/05$). همچنین، گروه تخم‌های چشم‌زده که از روز

جدول ۲ میانگین (\pm انحراف معیار) بازماندگی و درصد ناهنجاری قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای بخش دوم (آلومین).

گروه‌ها	غلظت باکتری (CFU/mL)	بازماندگی (%)	نوزاد معیوب (ناهنجاری) (%)
شاهد	۰	$89/36 \pm 1/39^d$	$0/85 \pm 0/15$
تخم	۱۰۶	$93/67 \pm 1/07^b$	$0/53 \pm 0/16$
	۱۰۷	$95/62 \pm 0/65^a$	$0/88 \pm 0/24$
آلومین	۱۰۶	$90/98 \pm 0/59^{cd}$	$0/54 \pm 0/14$
	۱۰۷	$91/31 \pm 0/68^c$	$0/82 \pm 0/15$

* داده‌های ارائه شده در هر ستون با حروف غیر مشترک با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند ($p < 0/05$).

(جدول ۳). بر طبق نتایج، بیشترین درصد بازماندگی در گروهی مشاهده شد که از روز اول (گروه تخم چشم‌زده) باکتری دریافت کرده بود (جدول ۳).

بیشترین بازماندگی و کمترین تلفات در تیمارهای دریافت-کننده باکتری در گروه اول و دوم (تخم چشم‌زده) و گروه سوم و چهارم (آلومین) مشاهده شد و کمترین درصد بازماندگی نیز در گروه شاهد گزارش شد ($p < 0/05$).

جدول ۳ میانگین (\pm انحراف معیار) درصد بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای بخش سوم (بچه ماهی).

گروه‌ها	غلظت باکتری (CFU/mL)	بازماندگی (%)
شاهد	۰	$94/28 \pm 0/95^c$
تخم	۱۰۶	$98/41 \pm 1/45^a$
	۱۰۷	$98/73 \pm 0/54^a$
آلومین	۱۰۶	$99/36 \pm 1/09^a$
	۱۰۷	$98/73 \pm 1/09^a$
بچه ماهی	۱۰۶	$96/50 \pm 1/09^b$
	۱۰۷	$96/19 \pm 0/95^b$

* داده‌های ارائه شده در هر ستون با حروف غیر مشترک با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند ($p < 0/05$).

مطالعه حاضر نشان داد که در طی دوره آزمایش هیچ اختلاف معنی داری در سطح آمونیاک و آمونیوم در تمام مخازن وجود نداشت و در این فراسنجه‌ها بهبود مشاهده شد. نتایج ما با نتایج Dalmin و همکاران (۲۰۰۱) مطابقت دارد که گزارش کردند استفاده از پروبیوتیک *Bacillus* sp. به آب مخازن پرورشی باعث بهبود کیفیت آب می‌شود. علاوه بر این، فعالیت نیتريت‌زدایی SCO_2 برای بهبود کیفیت آب گزارش شده است (Wang et al. 2008). افزودن باکتری نیتريت‌زدا به بستر *floating*

بحث

استفاده از پروبیوتیک می‌تواند باعث بهبود کیفیت آب شود (Wang et al. 2005). Lakshmanan و Soundarapandian (۲۰۰۸) اثر استفاده از پروبیوتیک-های تجاری (*Subtilis* spp.) را بر پرورش *Penaeus vannamei* بررسی کردند و مشاهده کردند که پروبیوتیک‌ها به طور قابل توجهی غلظت نیتريت و آمونیاک را در آب استخر در مقایسه با گروه شاهد کاهش داده و باعث افزایش بازده میگو می‌شود. با وجود این، یافته‌های

آسانتر است. به این دلیل که بعدها فلور نسبتاً ثابتی در لوله گوارش ایجاد می‌شود. شاید بتوان یکی از دلایل افزایش بازماندگی را در بخش دوم آزمایش در غلظت CFU/mL 10^7 در گروه تخم‌های چشم‌زده (روز ۱ تا ۲۰) و در بخش سوم آزمایش در گروه تخم‌های چشم‌زده از روز ۱ تا روز ۶۰ در غلظت CFU/mL 10^7 به همین امر مربوط دانست. همچنین، در یک بررسی مشخص شد که شمارش باکتری‌های زنده در آب واحدهای تکثیر و پرورش مترکم قبل از تخم‌گشایی برابر CFU/mL 10^3 است، اما میزان آن دو روز پس از تخم‌گشایی (یعنی مراحل ابتدایی زندگی نوزاد) به CFU/mL 10^6 می‌رسد (Balcázar et al. 2006). در مطالعه‌ای، میزان بازماندگی نوزاد به میزان قابل توجهی پس از افزودن *L. plantarum* به آب انکوپاسیون تخم و نوزاد (*Hippoglossus hippoglossus* L.) Atlantic halibut افزایش یافت (Ottesen & Olafsen, 2000). همچنین، Lauzon و همکاران (۲۰۱۰) اثرات درمان باکتریایی بر میزان بار میکروبی، رشد و نمو نوزاد طی ۳۸ روز به آب پرورش تخم و نوزاد کاد اطلس سه سویه باکتریایی *Carnobacterium* و *Arthrobacter sp. divergens* را در مرحله تخم به میزان CFU/mL 10^7 و در مرحله نوزادی به میزان CFU/mL 10^6 ارزیابی کردند. نتایج با نتایج این تحقیق مبنی بر اینکه که افزودن منظم پروبیوتیک‌ها به آب باعث بالا رفتن بازماندگی نوزادها می‌شود، مطابقت داشت. همچنین، آنها نشان دادند که افزودن پروبیوتیک به آب تخم‌چشم‌زده باعث کاهش آلودگی اولیه می‌شود، اما تنها اثر کوتاه مدتی داشت زیرا رشد میکروبی در تخم تا تفریح شدن سریع اتفاق می‌افتد و حمام مرتب تخم با پروبیوتیک باعث کاهش بار باکتریایی در مقایسه با دیگر روش‌های تجویز تا زمان تغذیه فعال می‌شود.

در حقیقت، پروبیوتیک‌ها می‌توانند کیفیت آب را بهبود بخشند و با توسعه جامعه میکروبی و تنوع بالای ریزموجودات باعث بهبود تغذیه (Moreno-Arias et al. 2018) و افزایش بازماندگی (Arias-Moscoso et al. 2018) ماهی پرورشی شوند. Taoka و همکاران (۲۰۰۶) نیز اثر چند پروبیوتیک تجاری (شامل *Bacillus*

canna حذف TN^۱ و COD^۲ را افزایش داد (Sun et al. 2009). بر همین اساس، همه متغیرهای کیفی آب اندازه‌گیری شده در مطالعه حاضر در سطوح قابل قبولی برای پرورش *O. mykiss* بود.

از نظر بازماندگی همان طور که در بخش نتایج مشاهده شد، این پروبیوتیک تأثیر قابل توجهی بر بازماندگی در تیمارهای واجد پروبیوتیک داشته است. مشابه مطالعه ما، افزودن مستقیم باکتری به آب پرورشی در مراحل اولیه نوزادی منجر به افزایش بقای نوزاد شده است (Ziaei-Nejad et al. 2006; Lauzon et al. 2014; Gupta et al. 2016). شاید بتوان یکی از دلایل بازماندگی را از بین رفتن دیگر باکتری‌ها به خصوص باکتری‌های مضر (استرپتوکوکوس) توسط باکتری *L. rhamnosus* PTCC 1637 و یا رقابت این باکتری‌ها با دیگر باکتری‌ها و در نهایت، تشکیل فلور غالب باکتریایی دانست. همان طور که Lauzon و همکاران (۲۰۱۴) نیز گزارش کردند، *L. plantarum* به میزان CFU/mL 10^5 به آب پرورش نوزاد کاد هم می‌تواند دیگر باکتری‌ها را از بین ببرند و هم قادرند برای مواد غذایی، فضا و سطح با دیگر باکتری‌ها رقابت کنند و باعث افزایش بازماندگی و کاهش درصد ناهنجاری شوند. همچنین، Gupta و همکاران (۲۰۱۶) نیز افزودن *Paenibacillus polymyxa* به میزان CFU/mL 10^3 ، 10^4 و 10^5 به ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با میانگین وزنی $15 \pm 2/5$ گرم به مدت ۲۴ روز را بررسی کردند. در مطالعه‌ای که توسط Gobi و همکاران (۲۰۱۶) انجام شد، اثر افزودن *Bacillus licheniformis* به میزان CFU/mL 10^5 و 10^7 به آب پرورشی گربه‌ماهی آسیایی (*Pangasius hypophthalmus*) با میانگین وزنی ۲۳/۱۷ گرم طی ۸ هفته بررسی شد. این محققان گزارش کردند که به‌طور قابل ملاحظه‌ای درصد بازماندگی افزایش یافت. به نظر می‌رسد که پروبیوتیک‌ها می‌توانند از طریق تأمین مواد مغذی ضروری و بهبود کیفیت آب باعث این افزایش شوند.

Fuller (۱۹۸۹) با بیان این مطلب که فلور دستگاه گوارش در مراحل نوزادی در حال تغییر است، عنوان کرد که این اصل کلی همواره حاکم است که تأثیرگذاری بر فلور دستگاه گوارش در طی این دوره در مقایسه با مراحل بعدی زندگی

² Chemical Oxygen Demand

¹ Total Nitrogen

نتیجه‌گیری

در مجموع، استفاده از باکتری در گروه تخم‌های چشم‌زده که از روز اول آزمایش باکتری دریافت کرده بودند، نتیجه مطلوب‌تری را نشان داد. با وجود این، تحقیقات بیشتری در زمینه تجویز پروبیوتیک از طریق آب باید انجام شود تا با رفع نواقص احتمالی و بررسی همه‌جانبه، بتوان به بهترین راهکار و دستورالعمل استفاده از این روش در صنعت آبی-پروری و برای هر یک از گونه‌های آبزیان دست یافت.

منابع

- Ahmadnia-Motlagh, H., Hajimoradlo, A., Gorbani, R., Naser, A.G.H., Safari, O., Lashkarizade-Bami, M. 2017. Reproductive performance and intestinal bacterial changes of *Carassius auratus* fed supplemented lactoferrin and *Lactobacillus rhamnosus* PTCC 1637 diet. Iranian Journal of Ichthyology 4: 150-161.
- Akrami, R., Iri, Y., Rostami, H.K., Mansour, M.R. 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. Fish and Shellfish Immunology 35: 1235-1239.
- Arias-MoscOSO, J.L., Espinoza-Barrón, L.G., Miranda-Baeza, A., Rivas-Vega, M.E., Nieves-Soto, M. 2018. Effect of commercial probiotics addition in a biofloc shrimp farm during the nursery phase in zero water exchange. Aquaculture Reports 11: 47-52.
- Balcázar, J.L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunningham, D., Vendrell, D., Múzquiz, J.L. 2006. The role of probiotics in aquaculture. Veterinary Microbiology 114: 173-186.
- Carnevali, O., Avella, M.A., Gioacchini, G. 2013. Effects of probiotic administration on zebrafish development and reproduction. General and Comparative Endocrinology 188: 297-302.
- Dalmin, G., Kathiresan, K. Purushothaman, A. 2001. Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem.
- De LeBlanc, A. de M., Castillo, N.A., Perdigon, G. 2010. Anti-infective mechanisms induced by a probiotic *Lactobacillus* strain against *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection. International Journal of Food Microbiology 138: 223-231.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. The Journal of Applied Bacteriology 66: 365-378.
- Ghosh, S., Sinha, A., Sahu, C. 2007. Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish. Aquaculture Research 38: 518-526.
- Gobi, N., Malaikozhundan, B., Sekar, V., Shanthi, S., Vaseeharan, B., Jayakumar, R., Nazar, A.K. 2016. GFP tagged *Vibrio parahaemolyticus* Dahv₂ infection and the protective effects of the probiotic *Bacillus licheniformis* Dabh₁ on the growth, immune and antioxidant responses in *Pangasius hypophthalmus*. Fish & Shellfish Immunology 52: 230-238.
- Gupta, A., Gupta, P., Dhawan, A. 2016. *Lactobacillus acidophilus subtilis* و *Saccharomyces cerevisiae* را بر رشد ماهی کفشک ژاپنی (*Paralichthys Olivaceus*) بررسی کردند و نتایج نشان داد که افزودن پروبیوتیک‌ها به رژیم غذایی یا آب محیط پرورش منجر به افزایش بازماندگی می‌شود. همچنین، بهبود شرایط فیزیکی و شیمیایی آب با کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا در محیط از طریق تبدیل مواد آلی به CO₂ و کاهش تشکیل کربن آلی محلول و ذره‌ای سبب افزایش بازماندگی می‌شوند (Akrami et al. 2013).

- Paenibacillus polymyxa as a water additive improved immune response of *Cyprinus carpio* and disease resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Reports* 4: 86-92.
- Hai, N.V. 2015. The use of probiotics in aquaculture. *Journal of Applied Microbiology* 119: 917-935.
- Hajibeglou, A., Sudagar, M. 2018. Effect of light intensity on hatching rate, survival and growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) alevin. *Journal of Aquaculture Development* 12: 37-48.
- Hamdan, A.M., El-Sayed, A.F.M., Mahmoud, M.M. 2016. Effects of a novel marine probiotic, *Lactobacillus plantarum* AH 78, on growth performance and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Applied Microbiology* 120: 1061-1073.
- Lakshmanan, R., Soundarapandian, P. 2008. Effect of commercial probiotics on large scale culture of black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius). *Research Journal of Microbiology* 3: 198-203.
- Lauzon, H.L., Gudmundsdottir, S., Steinarsson, A., Oddgeirsson, M., Petursdottir, S.K., Reynisson, E., Gudmundsdottir, B.K. 2010. Effects of bacterial treatment at early stages of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) on larval survival and development. *Journal of Applied Microbiology* 108: 624-632.
- Lauzon, Hélène L, Pérez-Sánchez, T., Merrifield, D.L., Ringø, E., Balcázar, J.L. 2014. Probiotic applications in cold water fish species. *Aquaculture Nutrition: Gut health, Probiotics and Prebiotics* 223-252.
- Moreno-Arias, A., López-Elías, J.A., Martínez-Córdova, L.R., Ramírez-Suárez, J.C., Carvallo-Ruiz, M.G., García-Sánchez, G., Miranda-Baeza, A. 2018. Effect of fishmeal replacement with a vegetable protein mixture on the amino acid and fatty acid profiles of diets, biofloc and shrimp cultured in BFT system. *Aquaculture* 483: 53-62.
- Ottesen, O.H., Olafsen, J.A. 2000. Effects on survival and mucous cell proliferation of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L., larvae following microflora manipulation. *Aquaculture* 187: 225-238.
- Salehi, F. 2020. Effect of coating made by new hydrocolloids on the oil uptake during deep-fat frying: A review. *Journal of Food Processing and Preservation* 44.
- Salehi, F., Roustaei, A.H., Haseli, A.R. 2021. Effect of surface coating with seeds mucilages and xanthan gum on oil uptake and physical properties of fried potato strips. *Food Science and Nutrition* 9: 6245-6251.
- Segers, M.E., Lebeer, S. 2014. Towards a better understanding of *Lactobacillus rhamnosus* GG-host interactions. *Microbial Cell Factories* 13: 1-16.
- Silva, E.F., Soares, M.A., Calazans, N.F., Vogeley, J. L., do Valle, B. C., Soares, R., Peixoto, S. 2012. Effect of probiotic (*Bacillus* spp.) addition during larvae and postlarvae culture of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research* 44: 13-21.
- Siro, I., Kapolna, E., Kapolna, B., Lugasi, A. 2008. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance. *Appetite* 51: 456-467.
- Sugiura, S.H., Babbitt, J.K., Dong, F.M., Hardy, R.W. 2000. Utilization of fish and animal by-product meals in low-pollution feeds for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 31: 585-593.
- Sun, L., Liu, Y., Jin, H. 2009. Nitrogen removal from polluted river by enhanced floating bed grown canna. *Ecological Engineering* 35: 135-140.
- Taoka, Y., Maeda, H., Jo, J.Y., Jeon, M.J., Bai, S.C., Lee, W.J., Koshio, S. 2006. Growth, stress tolerance and non-specific immune response of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* to probiotics in a closed recirculating system. *Fisheries Science* 72: 310-321.
- Taylor, J.F., North, B.P., Porter, M.J.R., Bromage, N.R., Migaud, H. 2006. Photoperiod can be used to enhance

- growth and improve feeding efficiency in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 256: 216-234.
- Wang, Y.B., Li, J.R., Lin, J. 2008. Probiotics in aquaculture: challenges and outlook. *Aquaculture* 281: 1-4.
- Wang, Y.B., Xu, Z.R., Xia, M.S. 2005. The effectiveness of commercial probiotics in northern white shrimp *Penaeus vannamei* ponds. *Fisheries Science* 71: 1036-1041.
- Weber III, R.E., Weber, M.J. 2020. Behaviour and survival of wild versus stocked fingerling walleye. *Fisheries Management and Ecology* 27: 429-443.
- WEN, Y., Xue, Ch., Zhang, H., Xu, L., Wang, X., Bi, S., Xue, Q., Xue, Y., Li, Z., Velasco, J., Jiang, X. 2023. Concomitant oxidation of fatty acids other than DHA and EPA plays role in the characteristic off-odor of oil fish. *Food Chemistry* 404: 134724.
- Zhang, X., Fu, L., Deng, B., Liang, Q., Zheng, J., Sun, J., Wenying, S. 2013. *Bacillus subtilis* SC02 supplementation causes alterations of the microbial diversity in grass carp water. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 29: 1645-1653.
- Zhou, X., Tian, Z., Wang, Y., Li, W. 2010. Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Fish Physiology and Biochemistry* 36: 501-509.
- Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.R., Shakouri, M. 2006. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture* 252: 516-524.