

## تأثیر پروبیوتیک تجاری بیوپلاس 2B بر خصوصیات کیفی آب، میزان رشد و درصد بازماندگی ماهی Poecilia sphenops در سیستم بدون تعویض آب

ثنا ریبعی<sup>(۱)</sup>؛ سعید ضاییی نژاد<sup>(۱)</sup>

[zbsaeed@yahoo.com](mailto:zbsaeed@yahoo.com)

۱- دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده منابع طبیعی بهبهان، گروه شیلات

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۱

### چکیده

در آبزی پروری کیفیت آب نقش مهمی در سلامت ماهی و میزان رشد و بقاء آن ایفا می‌نماید. با افزایش تقاضا برای آبزی پروری دوستدار محیط زیست استفاده از پروبیوتیک‌ها به این منظور به طور گسترده مورد پذیرش قرار گرفته است. در مطالعه حاضر اثر پروبیوتیک بیوپلاس 2B با غلاظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ گرم بر لیتر در مقایسه با تیمار شاهد بر خصوصیات کیفی آب و میزان رشد و بازماندگی ماهی مولی (*Poecilia sphenops*) در سیستم بدون تعویض آب به مدت یک ماه مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش در آزمایشگاه گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی بهبهان در پاییز سال ۱۳۸۵ انجام پذیرفت. ۹ آکواریوم شامل ۳ تکرار برای هر تیمار مورد استفاده قرار گرفت، هر مخزن با ۳۰ عدد ماهی (میانگین وزنی ۱/۰۵ گرم) ذخیره سازی شد. فاکتورهای کیفی آب شامل، هدایت الکتریکی، اکسیژن محلول و pH به مدت یک ماه به صورت روزانه مورد بررسی قرار گرفتند و در پایان به منظور تعیین میزان رشد و بازماندگی، ماهیان وزن و شمارش شدند. در نهایت مشاهده شد که پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات کیفی آب ندارد ( $p > 0/05$ ) هرچند سبب افزایش رشد و درصد بازماندگی ماهی‌ها شد ( $p < 0/05$ ). این آزمایش در آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه صنعتی خاتم الانیا بهبهان در پاییز سال ۱۳۸۵ انجام پذیرفت.

**کلمات کلیدی:** پروبیوتیک، بیوپلاس 2B، خصوصیات کیفی آب، درصد بازماندگی.

\*نویسنده مسئول

## ۱. مقدمه

به باکتری‌های گرم منفی موثرتند (۳). پروبیوتیک‌ها سبب کاهش میکروب‌های بیماری‌زا در محیط و موجود زنده شده و با تقویت میکرووارگانیسم‌های مفید موجود در دستگاه گوارش ماهی سبب سلامتی و افزایش رشد و درصد بازماندگی ماهی می‌شوند (۴). تا کنون مطالعاتی در رابطه با تأثیر پروبیوتیک‌ها بر خصوصیات کیفی آب در استخراها و مخازن پرورش ماهی و میگو صورت گرفته و نتایج متناقضی به دست آمده است به طوری که در برخی مطالعات استفاده از پروبیوتیک سبب بهبود کیفیت آب شده و در برخی دیگر تأثیر معنی‌داری نداشته است لذا در مطالعه حاضر امکان استفاده از پروبیوتیک بیوپلاس 2B به منظور بهبود کیفیت آب و افزایش زند و درصد بازماندگی ماهی‌ها در سیستم بدون تعویض آب مورد مطالعه قرار گرفت.

## ۲. مواد و روش‌ها

ماهیان: این آزمایش در آزمایشگاه گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی بهبهان در پاییز سال ۱۳۸۵ انجام پذیرفت. ماهیان مولی *Poecilia sphenops* با میانگین وزن ۱۰۵ گرم و طول ۴/۵ سانتی متر از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان زیستی شیراز خریداری شده و پس از ورود به محل آزمایش به مدت دو هفته با شرایط آدپتی و در دمای ۲۸-۳۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و در طول دوره آزمایش با غذای لوفاگ غذاده‌ی گردیدند.

پروبیوتیک مصرفی: در این تحقیق از پروبیوتیک بیوپلاس 2B استفاده گردید. بیوپلاس 2B، پروبیوتیکی است حاوی *Bacillus* سویه‌های برتر ژنتیکی دو نوع باسیل، به نام‌های *B. licheniformis* CH200 و *B. subtilis* CH201 نسبت‌های برابر در این ترکیب وجود دارند.

مراحل آزمایش: آزمایش در سه تیمار و هر تیمار با سه تکرار انجام گرفت. به این منظور از مخازن شیشه‌ای با گنجایش ۶۰ لیتر استفاده گردید. اکواریوم‌ها ابتدا ضدغونی و سپس آبگیری شدند و ۳۰ عدد ماهی مولی به صورت تصادفی به هر

در سال‌های اخیر آبزی پروری با رشد ۱۰ درصدی از سریع‌ترین بخش‌های تولید غذا بوده است، آبزی پروری در کنار این رشد قابل توجه همواره با مشکلاتی نیز روبرو بوده است که از آن جمله می‌توان به تغییرات کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و مشکلات تغذیه‌ای اشاره کرد (۶). استفاده از داروهای ضدمیکروب و ترکیبات ضدغونی کننده به منظور مقابله با عوامل بیماری‌زا و بهبود کیفیت آب مشکلاتی همچون مقاوم شدن سویه‌های باکتریایی و مسائل زیست محیطی را به دنبال دارد از این رو در سال‌های اخیر مطالعاتی در رابطه با استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان جایگزینی برای این ترکیبات انجام شده است (۵,۹). پروبیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی زنده هستند و از نظر سویه میکروبی مؤثرشان به سه گروه پروبیوتیک‌های باکتریایی، قارچی و مخمري تقسیم می‌شوند. پروبیوتیک‌های باکتریایی عمده‌ترین پروبیوتیک‌هایی‌اند که تاکنون در آبزی پروری استفاده شده‌اند (۷). از جمله مزایای پروبیوتیک‌ها در استخراهای آبزی پروری شامل: افزایش تجزیه مواد آلی، بهبود رشد جلبکی، افزایش اکسیژن محلول، کنترل آمونیاک، نیتریت و سولفید هیدروژن، کاهش شیوع بیماری‌ها و در نهایت افزایش تولید ماهی و میگو می‌باشد (۲). پروبیوتیک‌ها با غالب شدن در کف استخراهای پرورشی و هضم ضایعات و لجن سبب محدودیت پاتوژن‌های عامل بیماری و بهبود کیفیت آب می‌شوند (۹,۱۱). ادعا می‌شود که پروبیوتیک‌ها با تسريع فرایندهای طبیعی همچون نیتریفیکاسیون، آمونیفیکاسیون، دنتریفیکاسیون، اکسیداسیون سولفیدها و تجزیه ترکیبات سمی سبب بهبود کیفیت آب می‌شوند. در استخراهای حاوی فلور میکروبی چرخه تبدیل مواد ارگانیک به مواد غذایی همانند اکوسیستم‌های طبیعی می‌تواند صورت پذیرد (۲). بهبود خصوصیات کیفی آب به طور کلی مربوط به باکتری‌های جنس باسیلوس می‌باشد به دلیل اینکه باکتری‌های گرم مثبت در تبدیل مواد آلی به  $\text{CO}_2$  نسبت

### ۳. نتایج

نتایج تأثیر مقادیر مختلف پروپیوتیک بر خصوصیات کیفی آب در تصویر ۱ نشان داده شده است. مطابق تصویر میانگین pH، هدایت الکتریکی، اکسیژن محلول و دما در تیمارهای پروپیوتیک و شاهد در طول دوره آزمایش تفاوت معنی داری نداشت ( $p > 0.05$ ).

میانگین نرخ رشد ویژه ماهی ها در تیمارهای مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است، با توجه به شکل میانگین نرخ رشد ویژه در تیمارهای پروپیوتیک و شاهد تفاوت معنی داری نداشت ( $p > 0.05$ ) هرچند میانگین نرخ رشد ویژه در تیمارهای  $P_3$  و  $P_6$  به ترتیب با میزان ۴۱/۸۴ و ۵۷/۵۳ درصد نسبت به تیمار شاهد با میانگین ۳۷/۳۷ دارای میزان بیشتری بود. تغییرات میزان بیومس ماهی ها در طی دوره آزمایش در تیمارهای مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است. بیوماس ماهی در تیمار  $P_6$  با ۰/۸۴ گرم افزایش به طور معنی داری بیشتر از تیمارهای شاهد و  $P_3$  با ۰/۵۷ و ۰/۴۷ گرم افزایش بود ( $p < 0.05$ ). مطابق شکل ۴ درصد بازماندگی ماهی ها در تیمارهای حاوی پروپیوتیک به طور معنی داری بیشتر از تیمار کنترل بود ( $p < 0.05$ ). درصد بازماندگی در تیمارهای  $P_3$  و  $P_6$  به ترتیب با ۵۶/۷۹ و ۶۰/۴۹ درصد به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد با میزان ۴۸/۱۴ درصد بود. استفاده از پروپیوتیک سبب افزایش بازماندگی ماهیان به میزان ۷-۱۳ درصد شد.

### ۴. بحث

تا کنون مطالعات متعددی به منظور ارزیابی تأثیر پروپیوتیک ها بر خصوصیات کیفی آب در استخراهای پرورش ماهی و میگو و نیز سیستم های بدون تعویض آب انجام شده است. در استخراش پرورش میگوی *Penaeus vannamei* پروپیوتیک *Bacillus coagulans* تأثیر معنی داری بر خصوصیات کیفی آب نداشت ولی سبب افزایش معنی داری در نرخ بقای میگو شد.

(۱۷)

کدام از مخازن اضافه شد. پروپیوتیک مصرفي به صورت یک روز در میان به هر کدام از مخازن افزوده شد. در تیمار  $P_3$  غلظت پروپیوتیک مصرفي ۰/۱ گرم بر لیتر و در تیمار  $P_6$  غلظت پروپیوتیک مصرفي ۰/۲ گرم بر لیتر و تیمار شاهد C بدون پروپیوتیک بود. پروپیوتیک مصرفي ابتدا در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطور حل شده و پس از هواهدی به مدت ۲ ساعت به مخازن افزوده شد.

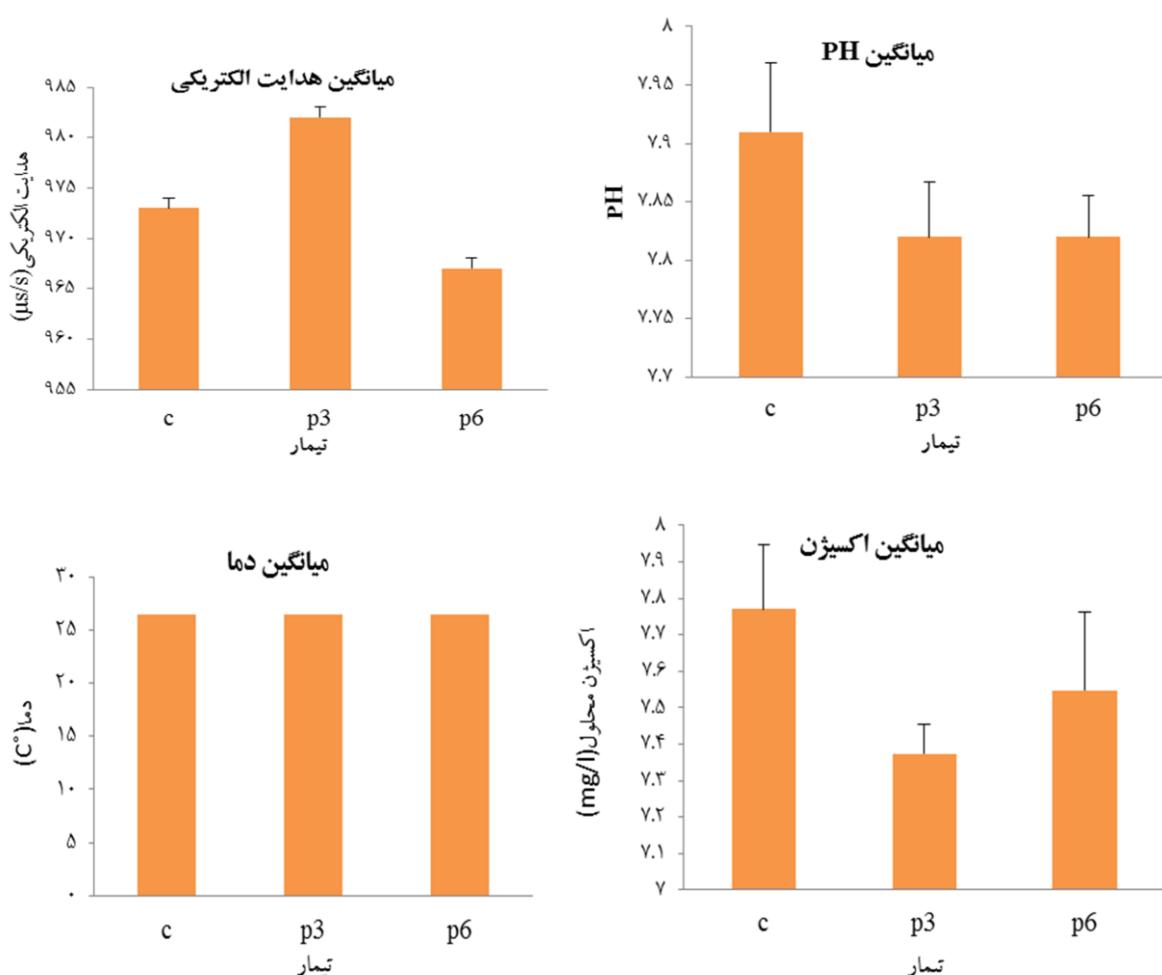
فاکتورهای کیفی آب: در طی دوره ۳۰ روزه آزمایش سنجش خصوصیات کیفی آب شامل pH، دما، اکسیژن محلول و هدایت الکتریکی به صورت روزانه صورت گرفت. به این منظور از دستگاه های pH متر، اکسیژن سنج و کانداقتیویتی سنج مدل Hach DRZ استفاده شد.

رشد و بازماندگی: به منظور تعیین میزان رشد و بازماندگی بیومتری ماهی ها پیش از ذخیره سازی و در پایان دوره آزمایش با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت دورقم اعشار صورت گرفت. تلفات ماهیان نیز به صورت روزانه ثبت گردید. فاکتورهای رشد و درصد بازماندگی ماهی ها بر اساس فرمول های زیر محاسبه شد.

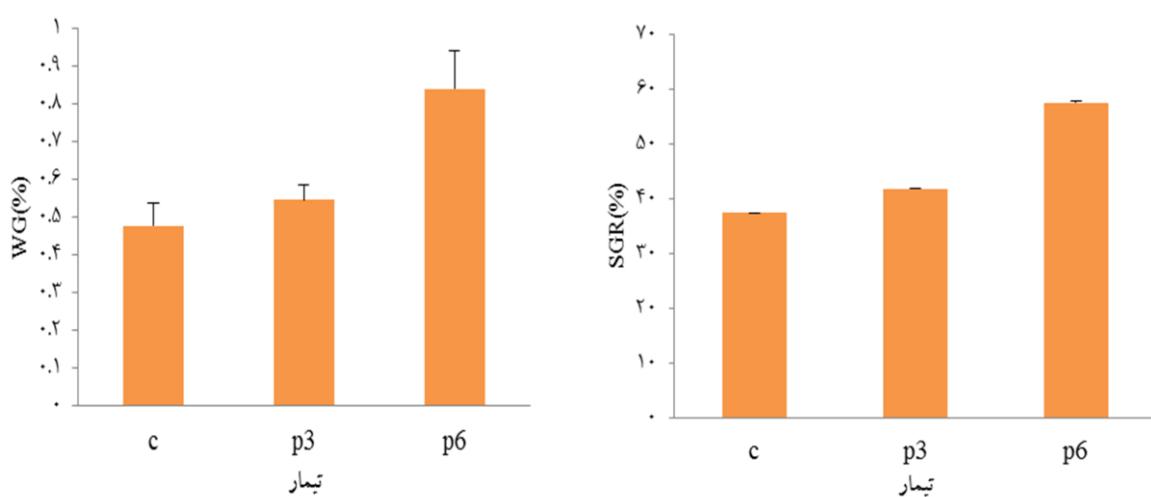
$$\text{ وزن ابتدایی - وزن انتهایی } = \text{ وزن به دست آمد } \text{ (WG) }$$

$$\text{SGR} = \frac{\ln w_1 - \ln w_2}{t} = \text{ (ضریب رشد ویژه وزنی)}$$

آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 13 صورت گرفت. پس از کنترل نرمال بودن داده ها توسط آزمون آماری کلموگروف اسمیرنوف از تجزیه واریانس یک طرفه به منظور تعیین اختلاف معنی دار بین تیمارها و از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین ها در سطح ۰/۰۵ استفاده شد. ترسیم اشکال با استفاده از نرم افزار Excel 2007 صورت گرفت.



شکل ۱: مقایسه میانگین خصوصیات کیفی آب در طول دوره آزمایش در تیمارهای مختلف



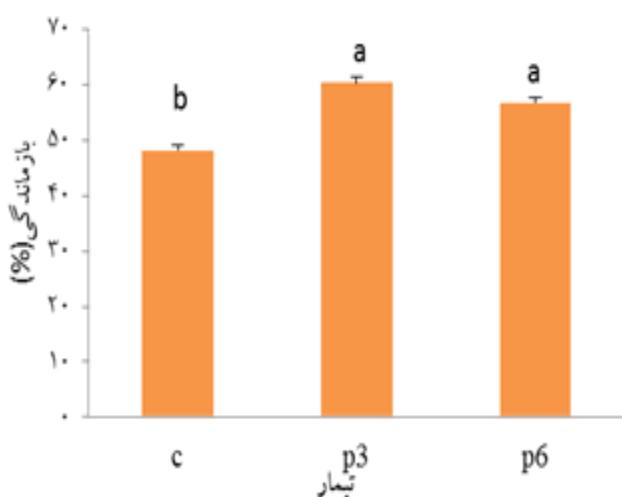
شکل ۲. نمودار ضریب رشد ویژه در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش

شکل ۳. نمودار تغییرات بیوماس در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش

احتمالاً به دلیل شرایط آزمایشگاهی کنترل شده در مطالعه حاضر و استفاده از مخازن دارای هیتر و سنگ هوا و در نتیجه ثابت بودن میزان دما و اکسیژن و کیفیت مناسب آب نسبت داد، در طول دوره آزمایش میانگین دما  $26/60^{\circ}\text{C}$ ، میانگین اکسیژن  $7/7-7/3$  میانگین pH  $7/9-7/7$  و میانگین هدایت الکتریکی  $982-967 \mu\text{s}/\text{s}$  بود که مطابق با محدوده استاندارد برای پرورش ماهیان زیستی می باشد. در واقع استفاده از پروپویوتیک در سیستم هایی می تواند مفید باشد که بار مواد آلی آن زیاد بوده و فلور میکروبی آن قادر به بهبود شرایط محیط نباشد. ارزیابی مطالعات مختلف با استفاده از پروپویوتیک مشکل است چون سودمندی استفاده از آنها بستگی به گونه آبزی، مقدار و دفعات استفاده از پروپویوتیک و شرایط محیطی محل پرورش دارد (۸). با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر استفاده از پروپویوتیک در دو غلظت  $0/1$  و  $0/2$  گرم بر لیتر سبب افزایش درصد بازماندگی ماهی ها در مقایسه با تیمار شاهد شد که با یافته Lim و همکاران (۲۰۰۵) بر روی لارو ماهی تیلاپیا مطابقت داشت (۱۰). بعلاوه مشاهده شد که میزان افزایش وزن در تیمار  $P_6$  به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد و  $P_3$  بود که با یافته های Nikoskeain و همکاران (۲۰۰۰) بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان مطابقت داشت (۱۲). با توجه به نتایج نرخ رشد ویژه سه تیمار اختلاف معنی داری نشان نداد هر چند میزان آن در تیمارهای پروپویوتیک نسبت به شاهد بالاتر بود.

#### منابع

- 1-Boyd , C . , W .Hollerman, J .Plumb and M .Saeed .1984. Effect of treatment with a commercial bacterial suspension on water quality in channel catfish ponds. Prog Fish-Cult. 46: 36-40.
- 2-Boyd , C . E ., A .Gross .1998. Use of probiotics for improving soil and water quality in aquaculture ponds ,In Flegel TW (ed) Advances in shrimp biotechnology. National



شکل ۴: نمودار درصد بازماندگی در تیمارهای مختلف در طول دوره آزمایش

در مطالعه ای بر روی اثر پروپویوتیک بر کیفیت آب و تولید میگو در مخازن پرورش میگوی *Litopenaeus vannamei* در سیستم بدون تعویض آب مشخص شد که پروپویوتیک تأثیر معنی داری بر خصوصیات کیفی آب و محصول میگو ندارد و دلیل آن را نیز به کافی بودن فلور میکروبی مخازن پرورش در حمایت از کیفیت آب مخازن و رشد میگو نسبت دادند (۱۱). در استخر گربه ماهی کانالی پروپویوتیک بر خصوصیات کیفی آب شامل غلظت نیتروژن غیرآلی، فسفر کل، COD<sub>5</sub>, COD<sub>10</sub>, درصد جلبک های سبز، میزان فیتوپلاکتون در میلی لیتر و همچنین میزان تولید ماهی تأثیر معنی داری نداشت (۱). نتایج مشابهی نیز در مطالعه بر روی تأثیر پروپویوتیک بر خصوصیات کیفی آب و میزان رشد ماهی در استخر پرورش ماهی کپور به دست آمد با این تفاوت که پروپویوتیک سبب افزایش معنی دار در نرخ رشد ماهی شد (۱۳). مطابق نتایج فوق در مطالعه حاضر نیز پروپویوتیک بیوپلاس تأثیر معنی داری بر خصوصیات کیفی آب شامل pH, اکسیژن محلول، دما، هدایت الکتریکی نداشت. در حالی که در مطالعات دیگر با استفاده از پروپویوتیک تجاری مشاهده شد که پروپویوتیک سبب کاهش معنی دار در میزان نیتروژن و فسفر در استخر و در نتیجه بهبود خصوصیات کیفی آب می شود (۱۴, ۱۵, ۱۶). این نتایج متناقض

- Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok.
- 3-Dalmin , G . , K .Kathiresan and A. Purushothaman .2001. Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem. Indian J. Exp. Biol. 39: 939–942.
- 4-Douillet , P . A . and C . J . Langdon .1994. Use of a probiotic for the culture of Pacific oyster *Crassostrea gigas thunberg*. Aqua. 199: 25-40.
- 5-Esiobu , N . , L . Armenta, J . Ike and I .J . Environ .2002. Antibiotic resistance in soil and water environments. Health Res. 1:, 133-144.
- 6-Fuller , R . , 1992. History and development of probiotics. In: Fuller, R. (Ed.), Probiotics: the Scientific Basis. Chapman & Hall, New York ; pp.1-8.
- 7-Gatesoupe , F . J . , 1999. The use of probiotics in aquaculture. Aqua. 180: 147–165.
- 8-Gomez-Gil , B . , A .Roque and J . F. Turnbull .2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in culture of larval aquatic organism. Aqua. 191: 256-275.
- 9-Janeo , R . L ., V . L .C. Jra and T .Sakata .2009. Water quality and phytoplankton stability in response to application frequency of bioaugmentation agent in shrimp ponds. Aqua Engin. 40: 120–125.
- 10-Lim , E. H . , T .J . Lam and J . L . Ding .2005. Single-cell protein diet of noval recombinant vitllogenin yeast enhances growth and survival of first feeding tilapia (*Oreochromis mossambicus*) larvae. Nutr. 135: 513- 518.
- 11-McIntosh , D . , T . Samocha, E . R . Jones, A . L . Lawrencea, A . McKee and A . Horowitzc .2000. The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. Aqua Engin. 21: 215–227.
- 12-Nikoskelainen , S . , A . Ouwehand, S . Salminen, G . Bylund .2000. Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) form furunclpsis by *Lactobacillus hamno*. Aqua. 198: 229- 230.
- 13-Sharma , O . P . and S . K . S . Bhukhar .2000. Effect of Aquazyn-TM-1000, a probiotic on the water quality and growth of *Cyprinus carpio* var. communis (L.). Indian J. Fish. 47: 209-213.
- 14-Wang , Y . , J . R . Li and J . Lin .2008. Probiotics in aquaculture: Challenges and outlook. Aqua. 281: 1–4.
- 15-Wang , Y . and Z . He .2009. Effect of probiotics on alkaline phosphatase activity and nutrient level in sediment of shrimp, *Penaeus vannamei*, ponds. Aqua. 287: 94-97.
- 16-Wang , Y . , Z . Xu and M . S . Xia .2005. The effectiveness of commercial probiotics in Northern White Shrimp (*Penaeus vannamei*) ponds Fish. Sci 71, pp. 1034–1039.
- 17-Zhou , X . , Y . Wang and W . Li .2009. Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. Aqua. 287: 349–353.

## **Effect of Commercial Probiotic, Bioplus 2B on Water Quality Parameters, Growth Performance and Survival Rate of *Poecilia sphenops* in System with no Water Exchange**

Rabiei S.<sup>(1)\*</sup>; Ziae Nejad S.<sup>(1)</sup>

zbsaeed@yahoo.com

1- Department of Fisheries, Natural Resources Faculty, University of Shahid Chamran

Received: April 2012

Accepted: December 2012

### **Abstract**

In aquaculture, water quality plays an important role in health, growth and survival of fish. By increasing demand for environment friendly aquaculture, the use of probiotics in aquaculture is now widely accepted. The effect of commercial probiotics, Bioplus 2B at 0.1 and 0.2 g/l on water quality parameters, growth performance and survival rate of *Poecilia sphenops* was investigated in system whit no water exchange. The experiment was conducted in Fisheries Group, Faculty of Natural Resources, Behbahan, in the fall of 1385. Nine aquaria with three replicates for each treatment were used. Each tank was stocked with 30 fish (average weight, 1.05 g). Water quality parameters were tested daily. At the end, fish from all the tanks were weighed and counted to calculate fish survival rate and growth performance. Probiotics have no significant impact on the quality of water ( $p>0.05$ ), however increased the growth and survival rates of fish ( $p<0.05$ ).

**Keywords :** Probiotics, Bioplus 2B, *Poecilia sphenops*, water quality parameters, survival rate.

---

\*Corresponding author