

[20.1001.1.20080026.1401.16.1.4.1](https://doi.org/10.1001.1.20080026.1401.16.1.4.1)

میکروفلور دستگاه گوارش ماهی قزل آلی رنگین کمان و اهمیت احتمالی آنها از نظر پروبیوتیکی

علیرضا مبرهن فرد^{۱*}، علی عظیمیان^۱^۱ گروه شیلات، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۲/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۱۱

چکیده

امروزه نقش میکروفلور دستگاه گوارش در حفظ سلامتی و آسایش حیوانات امری انکارناپذیر است. پژوهش حاضر با هدف شناسایی میکروفلور دستگاه گوارش ماهی قزل آلی رنگین کمان و اهمیت احتمالی آنها از نظر پروبیوتیکی صورت گرفته است. بدین منظور تعداد ۲۰ قطعه بچه ماهی قزل آلی رنگین کمان به وزن ۲ گرم تهیه و در اختیار طرح قرار گرفت و در طول دوره رشد، از مواد ضد عفونی کننده و از آنتی بیوتیک استفاده نشد. پس از اینکه ماهیان به وزن مورد نظر رسیدند به آزمایشگاه منتقل و بیومتری شدند که در دامنه وزنی بین 10 ± 30 گرم و طول کل ۸ تا ۱۲ سانتی متر بودند. پس از ضد عفونی ماهیان با الکل ۷۰ درصد و کالبد شکافی با وسایل استریل، روده خارج و کشت میکروبی مقدماتی و تفریقی شامل کشت با محیط های Nutrient Agar, Macconkey Agar, TSA, TSI, MR-VP, Urease Test Broth, E.M.B, Starch Agar انجام گردید. جهت شناسایی باکتری ها از رنگ آمیزی گرم استفاده گردید. همچنین از تست ها و معرف های بیوشیمیایی شامل متیل رد، معرف وژرپروسکوئر- باریت معرف کواکس، تست اکسیداز- کاتالاز تست خمیر قندها در پایه محیط OF، تست تجزیه ژلاتین و تست هیدرولیز نشاسته جهت تشخیص قطعی باکتری ها استفاده گردید. نتایج این تحقیق نشان دهنده آن است که فلور باکتریایی و درصد آنها در ماهی قزل آلی رنگین کمان شامل *Shewanella sp.* (10%)، *Citrobacter sp.* (8%)، *Edwardsiella sp.* (25%)، *Aeromonas sp.* (25%)، *Plesiomonas sp.* (2%)، *Hawmophilus sp.* (30%) می باشد. فلور غالب با احتمال پروبیوتیکی شامل باکتری های *Shewanella sp.*، *Plesiomonas sp.*، *Aeromonas sp.* می باشد.

واژه های کلیدی: میکروفلور، پروبیوتیک، کشت میکروبی، قزل آلی رنگین کمان، فلور باکتریایی روده

مقدمه

شناخته شده و سلامت مصرف کنندگان را به مخاطره می اندازد (افشار و همکاران، ۱۳۸۱؛ شفره، ۱۳۷۵). بر همین اساس افزایش روزافزون ناهنجاری های مادرزادی، بیماری های مزمن، عدم تأثیر داروهای پادزیست، فزونی پدیده مقاومت میکروبی و صدها عارضه کوچک و بزرگ دیگر که به عنوان معضلات بهداشتی کنونی جوامع بشری یاد می شود، به مصرف بی رویه همین مواد نسبت داده شده است. در عین حال به لحاظ نقش ارزنده این ترکیبات در افزایش بهره وری در تولیدات دام و طیور و آبیان در اکثر

جمعیت رو به رشد جهان، روی آوردن انسان به منابع غذایی جدید به خصوص منابع پروتئینی حیوانی را به صورت امری اجتناب ناپذیر در آورده است. با توجه به گسترش انواع مواد افزودنی در غذا و افزایش چشمگیر تولیدات جهانی فرآورده های دام و طیور، بر راحتی می توان حجم و میزان دارو و مواد شیمیایی برآورد نمود که به عنوان یک آلاینده محیط زیست

*نویسنده مسئول: dr.mobrhan@gmail.com

موارد استفاده مکرر از آنها اجتناب‌ناپذیر گردیده است، لذا داشتن انواعی از افزودنی‌ها که ضمن حفظ ویژگی‌های مطلوب فاقد تبعات سوء بهداشتی و زیست‌محیطی باشند، توجه همه پژوهشگران را در سطح جهان به خود معطوف داشته است.

در حیوانات بعضی از عوامل محیطی، سیستم دستگاه گوارش را تحت تأثیر قرار می‌دهد که در این میان تنش مهم‌ترین عامل تأثیرگذار بر روی دستگاه گوارش و در نتیجه بر روی عملکرد می‌باشد. فاکتورهای اصلی تغییر دهنده توازن میکروب‌ها در سیستم گوارش عبارتند از: حمل و نقل، تغییر درجه حرارت، نوع مواد غذایی، بیماری‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها. شواهدی در دسترس است که فلور روده‌ای در برابر استقرار طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زا در روده حفاظت به عمل می‌آورد. اما تجویز آنتی‌بیوتیک‌های خوراکی به مقدار بالا باعث نابودی فلور روده و استقرار ارگانسیم‌های معرفی شده^۱ می‌گردد. با کاهش مقاومت در برابر استقرار باکتری‌ها، تلاش‌های زیادی بعمل آمده تا پدیده مذکور از طریق جایگزینی باکتری‌های زنده احیا گردد. احیای نسبی با بکارگیری مخلوط حاوی تعداد بسیار زیادی از باکتری‌های روده‌ای قابل دستیابی است (Hentges, ۱۹۸۳).

بکارگیری پروبیوتیک‌ها در پیشگیری از بیماری‌ها و بهبود وضعیت سلامتی انسان و دام بیشینه‌ای چندین هزار ساله دارد (افشار و همکاران، ۱۳۸۱). واژه پروبیوتیک واژه‌ای یونانی، به معنای "برای زندگی" است. این واژه نخستین بار توسط Lilley و Stillwell در سال ۱۹۶۵ برای مواد مترشحه بوسیله میکروارگانسیم‌هایی به کار گرفته شد که موجب تحریک رشد در میکروارگانسیم‌های دیگر می‌شدند. بنابراین، این ترکیبات کاملاً در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها یا مواد «پادزیست» قرار می‌گیرند (Lilley و Stillwell،

۱۹۶۵). این مواد میکروارگانسیم‌های زنده‌ای هستند که نه تنها به عنوان محرک رشد، بلکه برای تحرک دستگاه ایمنی و پیشگیری از ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها بکار گرفته می‌شوند. یکی از مهم‌ترین راه‌هایی که یک میکروارگانسیم پروبیوتیکی می‌تواند تأثیر سودمند خود را بر میزبان اعمال نماید، تغییر فرآیندهای متابولیسمی، به ویژه آنهایی که در دستگاه گوارش رخ می‌دهد، است (افشار و همکاران، ۱۳۸۱).

این تصور که میکروارگانسیم‌هایی مانند باکتری‌های ذاتاً بیماری‌زا هستند، امری نادرست است. اکوسیستم دستگاه گوارش حیوانات مهره‌دار از میکروب‌های مختلفی که بسیار متفاوتند تشکیل شده است. بسیاری از این میکروب‌ها در فرآیند گوارش اثر مثبت دارند. مجموعه‌ای از میکروب‌های دستگاه گوارش سالم تحت عنوان میکروفلور طبیعی شناخته می‌شوند. میکروفلور دستگاه گوارش نه تنها در هضم غذا بلکه در افزایش مقاومت مطلوب در برابر بیماری‌ها نقش اساسی دارد (افشار و همکاران، ۱۳۸۱). میکروفلور دستگاه گوارش اکوسیستمی است که با میزبان خود و مسیرهای متابولیسمی بدن او تأثیرات متقابل پیچیده و نزدیک دارد. بدین ترتیب واکنش‌های متابولیسمی که در دستگاه گوارش رخ می‌دهند، هم از تأثیرات موضعی (به عنوان مثال، به روی مخاط دستگاه گوارش) و هم از تأثیرات عمومی برخوردارند.

با توجه به گسترش مزارع ماهی و توسعه صنعت آبی‌پروری، شناخت و استفاده از توانایی‌های موجود در زمینه پرورش ماهی امری ضروری است. در مورد ماهیان سردآبی در سطح کشور، افزایش دانش و آگاهی در مورد فن‌آوری زیستی (بیوتکنولوژی) پرورش این نوع ماهیان الزامی می‌باشد (دوره تکمیلی پرورش ماهیان سرد آبی، ۱۳۷۳). پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در میان ماهیان سرد آبی، به دلیل

۱. Allochtonous

آذری تاکامی (۱۳۸۴) غنی‌سازی آرتمیا با استفاده از مخمر جهت تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را انجام داد. از مهمترین بررسی‌های صورت گرفته بر روی استفاده از پروبیوتیک در پرورش ماهیان خاویاری می‌توان به غنی‌سازی ناپلی آرتمیا با استفاده از پروتکسین و تأثیر آن بروی لاروتاسماهی ایرانی که توسط شناور و همکاران (۲۰۰۷) صورت گرفت، اشاره نمود. نتایج حاصل از این بررسی بیانگر عدم تأثیر این ترکیب بروی رشد و بقای لاروتاسماهی ایرانی می‌باشد و مهمترین علت بروز این اختصاصی نبودن این محصول بیان گردیده است. تقوی (۱۳۸۴) مطالعه ای در زمینه بررسی مقایسه‌ای فاکتورهای رشد و بازماندگی بر اثر افزودن پروبیوتیک تپاکس «Thepax» در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مرحله رشد انجام داد.

در جهان نخستین آزمایش‌ها در مورد استفاده از پروبیوتیک‌ها در تغذیه آبزیان توسط موادی صورت گرفت که برای حیوانات خشک‌زی طراحی گردیده بود. برای مثال استفاده از بعضی محصولات تجاری حاوی استرپتوکوک موجب افزایش رشد و بهبود راندمان غذایی در کپور شدند. ضمن آنکه اشرشیاکولی در روده ماهی کپور بعد از ۱۴ روز تغذیه با این نوع پروبیوتیک ناپدید گردید. این محققان بدون هیچگونه شواهد آزمایشگاهی بیان کردند که استرپتوکوک، توانایی بالایی در اتصال به اپیتلیوم روده ماهی کپور دارد. اما زنده ماندن این میکروبها در سیستم گوارشی حیوانات آبی مورد تردید می‌باشد. به همین دلیل بیشتر تلاش‌ها بروی سویه‌های بومی با خاصیت پروبیوتیکی استوار گردیده است (Fuller, 1998). در آبی‌پروری برای اولین بار Yasuda و Taga (۱۹۸۰) پیش‌بینی کردند که باکتری‌هایی یافت خواهند شد که نه تنها بعنوان غذا مفید هستند، بلکه

کیفیت مطلوب بعنوان یک غذای لذیذ و بازارپسند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. همچنین این ماهی به دلیل اینکه آسان‌تر به غذای دستی عادت کرده و نسبت به تغییرات محیطی و درجه حرارت و کیفیت آب از حساسیت کمتری برخوردار است و شرایط پرورشی را بهتر تحمل می‌کند، از مناسب‌ترین ماهیان سرد آبی پرورشی محسوب می‌شود. اهمیت غذا و تغذیه در پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از دو جنبه یکی تأمین نیازهای کامل غذایی جهت رشد مناسب و دیگر ایجاد سرعت رشد مناسب برای رسیدن به وزن مطلوب در پایان دوره پرورش جهت افزایش بازده اقتصادی مطرح می‌باشد (Austreng, ۱۹۷۸). بر همین اساس تحقیق حاضر به منظور بررسی و شناسایی فلور میکروبی دستگاه گوارش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و معرفی نمونه‌های میکروبی طبیعی از نقطه نظر پروبیوتیک جهت استفاده در جیره غذایی این ماهی انجام گرفت.

در سالیان اخیر میکروفلور دستگاه گوارش در تحقیقات پزشکی، دامپزشکی و سایر زمینه‌های علمی بشدت مورد توجه قرار گرفته است. در نتیجه این تحقیقات نقش اساسی و جدایی‌ناپذیر میکروفلور دستگاه گوارش در حفظ سلامتی جانوران بوضوح آشکار گردیده است (افشار و همکاران، ۱۳۸۱). پروبیوتیک‌ها را نیز می‌توان یکی از دستاوردهای مثبت محققین دانست که با توجه به سوابق تاریخی و الهام از شرایط طبیعی میکروارگانیسم‌ها در دستگاه گوارش و تعادل موجود در طبیعت تهیه شده و بعنوان جایگزین پادزیست‌ها و مواد محرک رشد در غذای دام و طیور و آبزیان به صنعت عرضه شده است. مطالعات زیادی در این خصوص در ایران و دنیا صورت گرفته است که بخشی از سوابق این مطالعات مرور شده است.

توسط Pond و همکاران (۲۰۰۶) از روده ماهی قزل آلابی رنگین کمان جداسازی شد.

نتایج به دست آمده از کار با پروبیوتیک‌ها گاهی اوقات از تنوع بسیاری برخوردارند. که دلیل این تنوع را می‌توان به دو عامل: (۱) یکسان نبودن روش‌ها و شرایط فرآوری پروبیوتیک‌ها و گاهی اوقات غیر فعال بودن میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، و (۲) دوره (فاز) رشد حیوان، نوع پروبیوتیک مورد استفاده و شرایط بهداشتی محل پرورش حیوانات، اشاره کرد. با در نظر گرفتن عوامل ایجاد تنوع در نتایج آزمایش با پروبیوتیک، این مسأله که استفاده از پروبیوتیک‌ها همیشه نتایج مطلوبی در بر ندارد، تعجب برانگیز نخواهد بود. اما این حقیقت را باید در نظر داشت که نتایج معنی‌دار به دست آمده از آزمایش‌های پروبیوتیک، نشان داده که در صورت استفاده صحیح از پروبیوتیک‌ها همراه با شرایط مدیریتی و روش‌های خوراک دهی صحیح، پروبیوتیک‌ها می‌توانند به عنوان یک مکمل خوراکی مؤثر در تغذیه حیوانات مزرعه مورد استفاده قرار بگیرند. باید توجه داشت که اثرات مثبت بکارگیری سویه‌های پروبیوتیکی زمانی آشکار می‌شود که از میکروارگانیسم‌های زنده استفاده شود و برای رسیدن به یک عملکرد مطلوب، علاوه بر استفاده از تعداد مناسب و پیشنهاد شده سویه‌ها، این ارگانیسم‌های زنده باید توانایی بقا و تکثیر در محیط گوارشی را نیز داشته باشند. تنها در این صورت است که تحریک سیستم ایمنی بدن ناشی از بکارگیری این سویه‌ها، مستمر و طولانی خواهد بود (افشار و همکاران، ۱۳۸۱؛ Berg، ۱۹۹۶).

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق تعداد ۲۰ بچه ماهی به وزن ۲ گرم در دی ماه سال ۱۳۸۵ توسط اداره کل شیلات استان اصفهان تهیه گردید و برای ادامه رشد و رسیدن

بعنوان کنترل کننده‌های بیولوژیک بیماری ماهیان و فعال کننده‌های چرخه غذایی مفید می‌باشند.

اما تحقیقات جدی از سال ۱۹۹۰ آغاز گردید. مهمترین گروه‌های پروبیوتیک که بصورت گسترده‌ای در آبی پروری بعنوان کنترل کننده بیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل: *Vibrio*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus* می‌باشند و در اغلب موارد اثرات سودبخشی چون افزایش رشد، درصد بقا، تقویت سیستم ایمنی و تسریع کامل دستگاه گوارش مشاهده گردیده است (Fuller، ۱۹۹۸). در بررسی‌های انجام شده بوسیله Robertson و همکاران (۲۰۰۰) بر روی آزاد ماهیان شامل دو گونه ماهی آزاد آتلانتیک *Salmo salar* و قزل‌آلابی رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss*، باکتری *Carnobacterium* از دستگاه گوارش این ماهی جدا و کشت داده شد و به جیره غذایی این دو گونه در مقادیر متفاوت افزوده شد. نتایج این بررسی حاکی از افزایش رشد و بقای لاروهای این دو گونه و افزایش مقاومت آنها در حضور باکتری‌های *Aeromonas hydrophil*، *Salmonicida anguillarum*، *Vibrio Streptococcus*، *Flavobacterium psychrophilum* و در نهایت باکتری دیگری با نام علمی *Photobacterium damsela sub sp. Piscicida* انجام گردید. به علاوه نتایج این بررسی عدم تغییر فلور در باکتری‌های غالب در دستگاه گوارش این دو گونه در مراحل مختلف زیست را نشان می‌دهد. Nikoshelainen و همکاران (۲۰۰۱) اثرات سودبخش ناشی از کاربرد پروبیوتیک باکتریایی *Lactobacillus rhamnosu* در دوهای متفاوت بصورت خوراکی برای ماهی قزل‌آلابی رنگین‌کمان در تقویت سیستم ایمنی و رشد این گونه ماهی مشاهده نمود. در بررسی‌های انجام شده تعدادی از گونه‌های جنس *Aeromonas*

کشت مایع Nutrient Broth، قرار داده شد. پس از اینکه تمامی روده‌ها به همین ترتیب آماده گردید از هر پتری دیش سه بار توسط سوآپ استریل نمونه‌برداری انجام گرفت و در سه محیط TSI-Mac, Conkey Agar, Nutrient agar بصورت خطی کشت داده شد. سپس در انکوباتور با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد به مدت حدوداً ۶۰ ساعت قرار داده شدند و پس از آن جهت بررسی تفریقی و اختصاصی و در نهایت شناسایی به یخچال منتقل شدند.

مناسب جهت رشد پرگنه‌های باکتری جهت جلوگیری از انتشار آلودگی: برای شناسایی ارگانسیم‌ها روش‌های مختلفی وجود دارد. در این تحقیق برای تشخیص ارگانسیم‌های باکتری، آزمایش‌های باکتریولوژی با استفاده از معرف‌های لازم انجام شد. روش‌های آزمایشگاهی جهت تشخیص باکتری‌های ماهی با روش متداول و مستمر یا مرحله مرحله است که برای تشخیص سایر باکتری‌های مهم از نظر پزشکی و دامپزشکی دنبال می‌گردد (فرریکس و استوارت، ۱۳۸۲).

به وزن ۲۰ تا ۳۰ گرم در استخر جداگانه‌ای با دمای ۱۰-۱۴ درجه سانتی‌گراد ریخته شدند. در نیمه دوم فروردین ماه ۱۳۸۶ پس از آنکه بچه ماهیان به وزن مناسب رسیدند جهت انتقال به آزمایشگاه دانشگاه علوم و تحقیقات آماده شدند. جهت انتقال هر ۵-۶ بچه ماهی در پلاستیک‌های دو جداره که ۱/۳ فضای آن توسط آب استخر و ۲/۳ بقیه فضا توسط اکسیژن پر شده بود قرار داده شدند و شبانه با استفاده از خنکی هوا به تهران منتقل گردیدند. ضمناً برای کاهش متابولیسم و کاهش استرس، بچه ماهیان چند روز قبل از انتقال تغذیه نگردیدند، و تمامی ماهیان سالم به آزمایشگاه منتقل شدند.

در بدو ورود به آزمایشگاه بچه ماهیان بیومتری گردیده و شماره گذاری شدند. متوسط وزن آنها بین 10 ± 30 گرم و طول کل بین ۸-۱۲ سانتی متر بود. جهت انجام آزمایشات کامل میکروبیولوژی، قبل از انجام آزمایش ماهیان سریعاً کشته و توسط سوآپ استریل آغشته با الکل ۷۰٪ ضدعفونی گردیدند، سپس با استفاده لوازم برش یک برش سراسری روی دیواره بدن داده شد و سپس روده ماهی خارج گردید و در یک پتری دیش شماره‌گذاری شده و دارای محیط



شکل ۲- دستگاه اتوکلاو خشک



شکل ۴- دستگاه هود میکروبی



شکل ۱- دستگاه اتوکلاو مرطوب

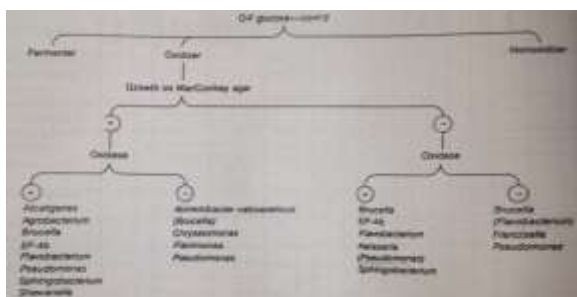


شکل ۳- دستگاه انکوباتر ایجاد دمای

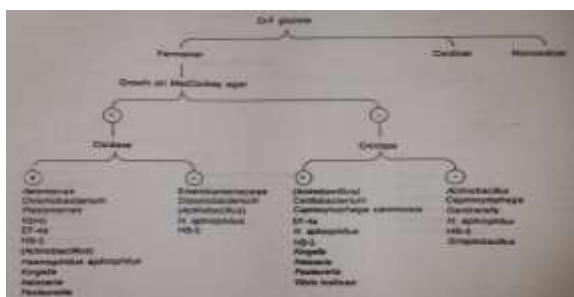
باکتری‌شناسی است، استفاده گردید. این روش تفاوت بین دو گروه از ارگانسیم‌ها که گرم مثبت و گرم منفی نامیده می‌شوند، را مشخص می‌کند. باکتری‌هایی که رنگ کریستال ویوله (رنگ اول) را نگه داشته و بنفش مانده انداز نوع باکتری‌های گرم مثبت‌اند و باکتری‌هایی که در اثر مواد رنگ بر الکل و استون رنگ از داده و در اثر فوشین و سافرائین قرمز شده‌اند، گرم منفی‌اند (کرمانشاهی و همکاران). جهت شناسایی باکتری‌ها از کتاب Diagnostic Microbiology Mahon استفاده گردید (Lovell, ۱۹۸۹).

جهت انجام آزمایش‌های تفریقی و خالص سازی از محیط‌های کشت شامل E.M.B, Urease Test Broth, SIM, TSA, Blood Agar, Starch Agar, MR-VP و Simon Sitrata استفاده گردید.

برای تشخیص قطعی باکتری‌ها از تست‌ها بیوشیمیایی شامل تست اکسیداز، تست کاتالاز، تست تخمیر قندها در پایه محیط O.F، تست تجزیه ژلاتین و تست هیدرولیز نشاسته، همچنین معرف‌هایی شامل معرف متیل‌رد، معرف ورژپروسکوئر-باریت و معرف کوکس استفاده گردید. برای رنگ‌آمیزی باکتری‌ها از رنگ‌آمیزی گرم، که مهمترین رنگ‌آمیزی در



نمودار ۲- تفکیک اولیه باکتری‌های گرم منفی جداسازی شده



نمودار ۱- تفکیک اولیه باکتری‌های گرم منفی جداسازی شده

روی محیط‌های عمومی براساس fermenter روی محیط‌های عمومی براساس oxidizer

جدول ۱- تست‌های تشخیصی تفریقی مرحله دوم جهت باکتری *Haemophilus sp.* جدا شده روی محیط‌های عمومی

Factor X+, V+, Porphyin-	Oxidase	Catalase	Hemolysis (Horse, Rabbit, Blood)	Carbon Dioxide Growth	TSI	Glucose	Pyruvate	Sucrose	Mannose	Fructose	Mannitol	Milkose	Xylose	Lactose	Nitrate	Esculin	Omnithine	Inulose	Urea
<i>Haemophilus influenzae</i>	+	+	-	-	NG	+	+	-	-	V	-	-	+	-	+	-	-	-	See biotype char
<i>Haemophilus influenzae Subsp acgypticus</i>	+	+	-	-	NG	V	-	-	-	V	-	-	V	-	+	-	-	V	+
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	+	+	+	-	NG	+	-	-	-	V	-	-	V	-	+	-	-	V	+
Factor X+, V+, Porphyin+					NG														
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	+	V	-	V	NG	+	-	+	V	+	-	+	-	-	+	-	-	-	See biotype char
<i>Haemophilus segnis</i>	-	V	-	-	NG	W	-	W	-	W	-	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	+	-	+	+	A/A	+	-	+	+	+	+	+	V	+	+	-	-	-	-
<i>Haemophilus parahemolyticus</i>	+	V	+	-	NG	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	V	-	+
<i>Haemophilus Parapho-haemolyticus</i>	+	+	+	+	A/A	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+
Factor X+, V-, Porphyin-																			
<i>Haemophilus ducreyi</i>	-	-	+/-	+/-	NG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Factor X+, V-, Porphyin-																			
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	+/-	-	-	+	A/A	+	V	+	V	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-

On initial isolation, may appear to hemin dependent.

V, Variable; W, Weak reaction; A, acid; -, +=90% or greater, NG, no growth.

جدول ۲- تست‌های تشخیصی تفریقی مرحله دوم جهت باکتری‌های *Plesiomonas* sp. جدا شده روی محیط‌های عمومی

SPECIES	OXIDASE	GLUCOSE (GAS)	LACTOSE	SUCROSE	Myo-INOSITOL	LYSIN DECARBOXYLASE	ARGININE DIHYDROLASE	ORNITHINE DECARBOXYLASE	GROWTH IN 0% Nacl	GROWTH IN 6% Nacl	TCBST GROWTH
<i>Aeromonas hydrophil</i>	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-
<i>A. caviae</i>	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-
<i>A. veronii biovar veronii</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-
<i>A. jandaei</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>A. schubertii</i>	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
<i>Aerobacterium viaticum</i>	V	-	-	V	NT	-	+	-	+	-	NT

NT, Not tested; e. variable; > 90% of strains are positive, > 90% of strains are negative.

Nutrient agar with 0% or 6% Nacl added.

thiosulfate citrate bile selrs sucrose agar.

91% produce an insoluble violet pigment; often, nonpigmented strains are indole-positive.

Sags-producing strains have been described.

جدول ۳- تست‌های تشخیصی تفریقی مرحله دوم جهت باکتری *Aeromonas* و *Plesiomonas* sp. جدا شده روی محیط‌های عمومی

	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Plesiomonas</i>
Gram reaction	-	-	-
Oxidase activity	+	+	+
Resistance to O/129*			
10 µg	+/-	+	+/-
150 µg	-	+	-
Growth in nutrient broth with:			
0% NaCl	-/+	+	+
6.5% NaCl	+	-	-
Acid from:			
Glucose	+	+	+
Inositol	-	-	+
Mannitol	+	+/-	-
Sucrose	+/-	+/-	-
Gelatin liquefaction	+	+	-

جدول ۴- تست‌های تشخیصی تفریقی مرحله دوم جهت باکتری خانواده *Enterobacteriaceae* جنس‌های *Edwardsiella* و

Citrobacteriaceae جدا شده روی محیط‌های عمومی

Test or Substrate	Escherichiae	Edwardsiellae	Citrobacteriaceae	Salmonellae	Klebsiellae	Proteae	Yersinieae
Hydrogen sulfide (TSI agar)	-	+	+ or -	+	-	+ or -	-
Urease	-	-	(+ ^w) or -	-	- or (+)	+ or -	+
Indole	+ or -	+	- or +	-	-	+ or -	+ or -
Methyl red	+	+	+	+	-	+	+
Voges-Proskauer	-	-	-	-	+	-	-
Citrate (Simmons)	-	-	+	+	+	d	-
KCN	-	-	+ or -	-	+	+	-
Phenylalanine deaminase	-	-	-	-	-	+	-
Mucate	d	-	-	d	+ or -	-	-
Mannitol	+ or -	-	+	+	+	- or +	+

جدول ۵- تست‌های تشخیصی تفریقی مرحله دوم جهت باکتری *Aeromonas sobria* جدا شده روی محیط‌های عمومی

Characteristic	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. Veronii</i> biogroup <i>sobria</i>	<i>A. Veronii</i> biogroup <i>veronii</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. schubertii</i>	<i>A. jandaei</i>	<i>A. trola</i>
Edculin hydrolysis	+	-	+	+	-	+	-
Voges-Proskauer	+	+	+	-	V	+	-
Pyrazinamidase activity	+	-	-	+	-	-	-
Arginine dihydrolase	+	+	-	V	+	+	+
Fermentation:							
Arabinose	V	-	-	+	-	-	-
Cellobiose	-	-	+	V	-	-	+
Mannitol	+	+	+	+	-	+	+
Sucrose	+	+	+	+	-	-	-
Susceptibility:							
Ampicillin	R	R	R	R	R	R	S
Carbenicillin	R	R	R	R	R	R	S
Cephalothin	R	S	S	R	S	R	R
Colistin	V	S	S	S	S	R	S
Decarboxylase:							
Lysine	+	+	+	-	+	+	+
Ornithine	-	-	+	-	-	-	-
Indole	+	+	+	+	-	+	+
H ₂ S ⁺	+	+	+	-	-	+	+
Glucose (gas)	+	+	+	+	+	+	+
Hemolysis (5% sheep erythrocytes)	+	+	+	V	+	+	V

جدول ۶- تست‌های تشخیصی تفریقی مرحله دوم جهت باکتری *Shewanella sp.* جدا شده روی محیط‌های عموم

	MOTILE, STRONGLY SACCHAROLYTIC NONFERMENTERS										MOTILE, WEAK OR NONSACCHAROLYTIC NONFERMENTERS										
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens/piscicola</i>	<i>P. cepacia</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	<i>Aeromonas nishikoi</i>	<i>Pseudomonas piscicida</i>	<i>P. shufzei</i>	<i>P. plecoglossicida</i>	<i>P. menthana</i>	<i>P. putrefaciens</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. pseudocitragena</i>	<i>Aeromonas faecalis</i>	<i>A. hydrophila</i> subsp. <i>denificans</i>	<i>Cyprina uretica</i>	<i>Bacterella bronchialis</i>	<i>P. alcaligenes</i>	<i>P. divergens</i>	<i>P. viscosus</i>	<i>P. litoralis</i>	<i>Shewanella putrefaciens</i>
Oxidase	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyocyanin	+/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluorescein	+	-2a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose	+	+	+	+/2	+/2	+	+	+/2	+	+	-2a	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Xylose	+	+	+/2	+	-	+	-2a	+/2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	+/2	+/2	+/2	-	-	+	-2a	+/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lactose	-	-	+/2	-	-	+	+/2	+/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	+/2	-	+	+	+/2	+/2	-	-	-2a	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
42°C	+	-	+/2	+	+/2	+	+	+/2	-	+	+/2	-2a	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Esculin	-	-	-2a	-	+	+/2	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urea	+	-2a	+/2	-	+/2	-2a	-2a	+/2	+	-	-	-2a	-	+	+	-2a	+/2	-	-	-	-2a
DHase	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
ONPG	-	-	+/2	-	+	-	-	+/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flagella	1	>1	>1	P	>1	>1	1	1	1	1	>1	1	P	P	P	P	1	1	1	>1	1
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
N ₂ Gas	+/2	-	-	-	-	+	+	+	+/2	-	-	+	+/2	+	-	-	-	-	-	-	-
Pigment	BFG	F	Y	-	Y	-	BY	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	BY	-	B
Growth on MAC	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-2a	+/2	+

نتایج

میکروارگانیزم‌های جدا شده از روده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان: پس از کشت‌های مقدماتی، تکمیلی و بیوشیمیایی باکتری‌های *Haemophilus aphrophilus*, *Plesiomonas Shigelloids*, *Edwardsiella ictalurid*, *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas sobria* و *Citrobacter sp.* براساس نمودارها و جداول تشخیصی، با استفاده از کلیدهای افتراقی مشخص شد (جدول ۷).

مشخصات باکتری‌های جدا شده براساس آزمایشات میکروبی بیولوژیکی: پس از خالص‌سازی پرگنه‌ها، با استفاده از جداول تشخیصی و با استفاده از نمودارهای ۱ و ۲، شناسایی انجام گرفت و باکتری‌های *Enterobacteriaceae*, *Chromobacterium*, *(Pasteurella bettyae) HB-5*, *Haemophilus aphrophilus* و *Actinobacillus* با توجه به مشخصات بدست آمده، مورد نظر می‌باشد.

جدول ۷- خانواده، جنس، گونه و درصد فراوانی باکتری‌های جدا شده از روده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

Family (خانواده)	Genera (جنس)	Species (گونه)	درصد فراوانی
Enterobacteriaceae	Edward silleae	Sp.	۸
Enterobacteriaceae	Citrobacter	Sp.	۱۰
Vibrionaceae	Aeromonas	Sp.	۲۵
Vibrionaceae	Plesiomonas	Sp.	۲۵
Pseudomonadaceae	Shewanella (pseudomonas)	Sp.	۳۰
Brucellaceae	Haemophilus	Sp.	۲

جدول ۸- خصوصیات باکتری‌های گرم منفی، اکسیداز منفی، تخمیری، رشد در محیط مک کانکی آگار مثبت

O/F	H ₂ S تولید	اوره از	حرکت	اندول	اکسیداز	کانالاز	نوع آزمایش / نوع باکتری
F	-	-	+	+	-	+	Enterobacteriaceae
F			+	-	+/-	+	Chromobacterium
F	-	+/-	-	-	-	+	Actinobacillus
F	-	-	-	-	+/-	-	Haemophilus aphrophilus
F	-	-	-	+	+/-	-	HB-5

پس از بررسی‌های اولیه و با توجه به نتایج، شد، که آزمایشات زیر جهت صحت نتایج با استفاده از جدول ۹ انجام گرفت. باکتری *Haemophilus aphrophilus* تشخیص داده

جدول ۹ خصوصیات باکتری کوکوباسیل یا باسیل گرم منفی، اکسیداز منفی، کوکوباسیل تخمیر کننده

رنگ در محیط B.A	استفاده از سیمون سیترات	مالنوز	مانیتول	تولید گاز	سوکروز	لاکتوز	گلوکز	نوع آزمایش / نوع باکتری
مات	-	+	-	-	+	+	+	H. aphrophilus

Actinobacillus, HB-5, EF-4b, Plesimonas, kingella, Haemophilus aphrophilus و Vibrio با توجه به مشخصات به دست آمده مورد نظر می‌باشند.

پس از خالص سازی پرگنه‌ها، با استفاده از جداول تشخیصی و با استفاده از نمودارهای ۱ و ۲، شناسایی انجام گرفت و باکتری‌های Chromobacterium, Aeromonas, Neisseria, Paturella,

جدول ۱۰- خصوصیات باکتری‌های گرم منفی، اکسیداز مثبت، تخمیری، رشد در محیط مک کانکی آگار مثبت

O/F	H ₂ S تولید	اوره از	حرکت	اندول	اکسیداز	کانالاز	نوع آزمایش / نوع باکتری
F	-	-	-	+/-	+	-	Kingella
F	-	-	-	-	+	+	Neisseria
F	-	+/-	-	-	+/-	+	Actinobacillus
F	-	-	-	-	+/-	-	Haemophilus aphrophilus
F	-	+/-	-	+/-	+	+	Pasturella
F	+	-	+	+	+	+	Aeromonas
F			+	-	+/-	+	Chromobacterium
F	-	-	+/-	+/-	+	+	Vibrio
F	+	-	-	-	+	+	EF-4b
F	-	-	-	+/-	+/-	-	HB-5 (Pasteurella bettyae)
F	+	+	+	-	+	-	Plesiomonas shigelliids

آزمایشات تکمیلی زیر جهت صحت نتایج با استفاده از جدول ۲ و ۳ انجام گرفت.

پس از بررسی‌های اولیه و با توجه به نتایج باکتری Plesiomonas shigelloids تشخیص داده شد، که

جدول ۱۱- خصوصیات باکتری کوکوباسیل گرم منفی، تخمیرکننده، اکسیداز مثبت

نوع آزمایش	گلوکز	ماینول	سوکروز	لاکتوز	اینوزینول	رنگدانه در Macconkey	رنگدانه در B.A	تولید گاز	استفاده از سیمون سترات
نوع باکتری	+	-	-	-	+	بفش پررنگ	سفید	-	-

پس از خالص سازی پرگنه‌ها، با استفاده از جداول

تشخیصی و با استفاده از نمودارهای ۱ و ۲، شناسایی

به مشخصات به دست آمده مورد نظر می‌باشند.

انجام گرفت و باکتری‌های *Haemophilus*

aphrophilus, HB-5, *Actinobacillus*

جدول ۱۲- خصوصیات باکتری‌های گرم منفی، تخمیرکننده، اکسیداز منفی، رشد روی مک کانکی آگار مثبت

نوع آزمایش	کانالاز	اکسیداز	اندول	حرکت	اوره از	تولید H ₂ S	O/F
نوع باکتری	+	-	+	+	-	+	F
Enterobacteriaceae	+	-	+	+	-	+	F
Chromobacterium	+	+/	-	+	-	-	F
Actinobacillus	+	-	-	-	+/	-	F
Haemophilus aphrophilus	-	+/	-	-	-	-	F
HB-5	-	+/	+	-	-	-	F

پس از بررسی‌های اولیه و با توجه به نتایج، باکتری

Enterobacteriaceae تشخیص داده شد، که

ازمایشات تکمیلی زیر جهت صحت نتایج با استفاده

از جدول ۴ انجام گرفت.

جدول ۱۳- خصوصیات باکتری گرم منفی، میله ای، تخمیرکننده و اکسیداز منفی

نوع آزمایش	گلوکز	ماینول	سوکروز	ترهالوز	لاکتوز	سوربیتول	تولید گاز	رنگدانه	واکس پروسکویر	استفاده از سیمون سترات
نوع باکتری	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Enterobacteriaceae	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-

جدول ۱۴- خصوصیات باکتری‌های گرم منفی، اکسید کننده، اکسیداز مثبت، رشد در محیط مک کانگی آگار مثبت

نوع آزمایش	کانالاز	اکسیداز	اندول	حرکت	اوره از	تولید H ₂ S	O/F
نوع باکتری	+	+	-	+	-	-	O/-
Alcalligenes	+	+	-	+	-	-	O/-
Agrobacterium	+	+	-	+	+	+/	O
Brucella	+	+	-	-	+	-	O
EF-4b	+	+	-	-	+	+	O
Flavobacterium	+	+	-	-	+/	-	O/-
Pseudomonas	+	+	+/	+	-	-	O/-
Sphingobacterium	+	+	-	+	-	-	O
Shewanella	+	+	-	+	+/	+	O

پس از خالص سازی پرگنه‌ها، با استفاده از جداول تشخیصی و با استفاده از نمودارهای ۱ و ۲، شناسایی انجام گرفت و با توجه به باکتری‌های موجود در نمودار به باکتری‌های *Alcalligenes*, *Agrobacterium*, *EF-4b*, *Sphingobacterium*, *Pseudomonas*, *Brucella*, *Flavobacterium* و *Shewanella* مشکوک شدیم. پس از بررسی‌های اولیه و با توجه به نتایج، باکتری *Shewanella* تشخیص داده شد، که آزمایشات تکمیلی زیر برای صحت نتایج با استفاده از جدول ۶ انجام گرفت.

جدول ۱۵- خصوصیات باکتری کوکوباسیل یا باسیل گرم منفی، اکسیداز مثبت و اکسید کننده

رنگ در محیط B.A	استفاده از سیمون سینترات	واکس پروسکویر	سوکرز	رنگدانه در محیط Macconkey	تولید گاز	مالنوز	لاکتوز	مانیتول	گلوکز	نوع آزمایش / نوع باکتری
سفید	-	-	-	قهوه ای	-	-	-	-	-	<i>Shewanella</i>

نمودار به باکتری‌های *HB-5*, *Chromobacterium*, *Plesiomonas*, *EF-4a*, *Kingella*, *Heamophilus aphrophilus*, *Vibrio*, *Actionbacillus*, *Pasteurella*, *Aeromonas* و *Neisseria* مورد شک قرار گرفت.

پس از خالص سازی پرگنه‌ها، با استفاده از جداول تشخیصی و با استفاده از نمودارهای ۱ و ۲، شناسایی انجام گرفت و با توجه به باکتری‌های موجود در

جدول ۱۶- خصوصیات باکتری‌های گرم منفی، تخمیری، اکسیداز مثبت، رشد در محیط مک کانگی آگار مثبت

O/F	H ₂ S تولید	لوره آز	حرکت	اندول	اکسیداز	کتالاز	نوع آزمایش / نوع باکتری
F	+	-	+	-	+/-	+	<i>Chromobacterium</i>
F	-	+	+	-	+	-	<i>Plesiomonas</i>
F	+	-	+/-	+/-	+	+	<i>Vibrio</i>
F	-	-	-	-	+	+	<i>EF-4a</i>
F	-	-	-	+/-	+/-	-	<i>HB-5</i>
F	-	+/-	-	-	+/-	+/-	<i>Actionbacillus</i>
F	-	-	-	-	+/-	-	<i>Heamophilus aphrophilus</i>
F	-	-	-	+/-	+	-	<i>Kingella</i>
O/F	-	-	-	-	+	+/-	<i>Neisseria</i>
F	-	+/-	-	+/-	+	+	<i>Pasteurella</i>
F	+	-	+	+	+	+	<i>Aeromonas sobria</i>

آزمایشات تکمیلی زیر جهت صحت نتایج با استفاده از جدول ۳ و ۵ انجام گرفت.

پس از بررسی‌های اولیه و با توجه به نتایج، باکتری *Aeromonas sobria* تشخیص داده شد، که

جدول ۱۷- خصوصیات باکتری با سیل گرم منفی، اکسیداز مثبت و تخمیری

واکس پروسکویر	مانیتول	استفاده از سیمون سینترات	رنگدانه Macconkey	رنگدانه در B.A	تولید گاز	لاکتوز	سوکرز	گلوکز	نوع آزمایش / نوع باکتری
+	+	-	صورتی	سفید	ضعیف	+	+	+	<i>Aeromonas sobria</i>

نمودار به باکتری‌های *Actinobacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Chromobacterium*, *H.aphrophilus* و *HB-5* مورد شک قرار گرفت.

پس از خالص سازی پرگنه‌ها، با استفاده از جداول تشخیصی و با استفاده از نمودارهای ۱ و ۲، شناسایی انجام گرفت و با توجه به باکتری‌های موجود در

جدول ۱۸- خصوصیات باکتری‌های گرم منفی، اکسیداز منفی، تخمیری و رشد در محیط مک کانکی آگار مثبت

O/F	H ₂ S تولید	اوره از	حرکت	اندول	اکسیداز	کاتالاز	نوع آزمایش نوع باکتری
F			+	-	+/-	+	Chromobacterium
F	-	+/-	-	-	-	+	Actinobacillus
F	-	-	-	-	+/-	-	H. aphrophilus
F	-	-	-	+	+/-	-	HB-5
F	-	-	+	+	-	+	Enterobacteriaceae (Citrobacer sp.)

داده شد که آزمایشات تکمیلی زیر جهت صحت نتایج با استفاده از جدول ۴ انجام گرفت.

پس از بررسی اولیه و با توجه به نتایج، باکتری Enterobacteriaceae (Citrobacer sp.) تشخیص

جدول ۱۹- خصوصیات باکتری باسیل گرم منفی، اکسیداز منفی، تخمیری و رشد در محیط مک کانکی آگار مثبت

واکس پروکوبیر	استفاده از سیمون سترات	رنگدانه Macconkey	رنگدانه در B.A	تولید گاز	مانیول	سوکروز	لاکتوز	گلوز	نوع آزمایش نوع باکتری
-	+ ضعیف	بنفش	سفید	+	+	-	-	+	Enterobacteriaceae (Citrobacer sp.)

یافته در شرایط ایزوله و عاری از انواع پادزیست‌ها و مواد ضد عفونی شناسایی گردید. جنس باکتری‌های غالب جدا شده از روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی این تحقیق شامل *Plesiomonas* sp., *Aeromonas* sp. و *Shewanella* می‌باشد، که از گروه باکتری‌های گرم منفی است.

مسئله مهم پس از تعیین باکتری‌های غالب در روده ماهی، بررسی آنها از نظر خاصیت پروبیوتیکی است. شناسایی گونه‌های باکتریایی جهت انتخاب باکتری‌های مناسب از نقطه نظر پروبیوتیکی توسط تحقیقات آزمایشگاهی مزیت‌های قابل توجهی نسبت به آزمایشات بر روی موجود زنده دارند، بطوریکه مدت زمان و تعداد حیوانات مورد آزمایش به میزان زیادی کاهش می‌یابند (Pond و Tal، ۲۰۰۶). در روش‌های جدید ارزیابی، نه تنها خصوصیات میکروبیولوژیکی (پتانسیل چسبندگی و ضد میکروبی) آزمایش می‌شوند بلکه سایر منافع مهم استفاده از پروبیوتیک همچون ارزش تغذیه‌ای و مزیت‌های پیشگیری از بیماری‌ها نیز در نظر گرفته می‌شود.

بحث

کاربرد پروبیوتیک‌ها در آبی پروری سابقه طولانی در جهان نداشته تحقیقات در این زمینه از سال ۱۹۹۰ آغاز شده است. پروبیوتیک‌ها با متفاوت ساختن فلور میکروبی سیستم گوارشی تاثیر مفیدی بر هضم، جذب و در نتیجه رشد، بازماندگی و سلامت میزبان ایفاء می‌کنند. مشخص نمودن مناسب‌ترین و موثرترین انواع پروبیوتیک‌های هر گونه، شناسایی فلور باکتریایی غالب دستگاه گوارش، بویژه ناحیه روده که در جذب ترکیبات غذایی نقش بیشتری دارد، حائز اهمیت می‌باشد. مدیریت فلور باکتریایی روده مبحثی مهم در دسترسی به بازدهی غذایی مناسب و رشد و سلامت ماهی است (Merrifield و همکاران، ۲۰۱۰).

در این تحقیق پس از طی مراحل مختلف کشت مقدماتی، کشت تفریقی و نیز تست‌های بیوشیمیایی، باکتری‌های (*Aeromonas* sp., *Edwardsiella* sp., *Citrobacter* sp., *Haemophilus* sp., *Plesiomonas* sp., *Shewanella* sp.) در روده از نمونه‌های پرورش

همکاران، ۲۰۰۷). پاسخ ایمنی میزبان به عنوان کلید اصلی شناسایی یک پروبیوتیک است خصوصاً وقتی که هدف کنترل بیماری‌های عفونی در سیستم پرورش است (Salina و همکاران، ۲۰۰۶). Nikoskelainen و همکاران در سال ۲۰۰۱ نشان دادند که *Lactobacillus rhamnosus* می‌تواند سبب محافظت قزل‌آلای رنگین‌کمان از بیماری فرونکلوزیس شود.

سپاسگزاری

از مدیریت و کارکنان محترم مرکز تکثیر و پرورش آبزیان اصفهان و همچنین آزمایشگاه دانشگاه علوم و تحقیقات تهران که در طول انجام این تحقیقات امکانات و شرایط مناسب را برای اجرای موفقیت‌آمیز این پروژه فراهم نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

پروبیوتیک‌ها با کمک کردن به تعادل فلور میکروبی روده، بر میزبان تاثیر سودمند دارند و علاوه بر نقش مهار کننده بر باکتری‌های بیماری‌زا و غیر مفید روده، در بهبود متابولیسم لاکتوز، کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، افزایش جذب عناصر معدنی و ویتامین‌ها و در نهایت افزایش رشد و ایمنی نقش دارند (Ringo و Gatesoups، ۱۹۹۸).

با توجه به این مسئله می‌توان فرض نمود که سه باکتری غالب مشخص شده در این تحقیق دارای خاصیت پروبیوتیکی هستند. ولی جهت تأیید این فرضیه بایستی آزمایشات تکمیلی خصوصاً آزمایشات *In vivo* (موجود زنده) انجام پذیرد. البته شواهدی نیز بر خواص پروبیوتیکی گونه‌های بیان شده موجود است، به طوری که اثرات سودمند ترکیب گونه *Aeromonas Sobria* در غذای ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان به عنوان یک پروبیوتیک در مقابل عفونت *L. garvieae* مشخص شده است (Vendrell و

References

- Afshar Mazandaran-Nader and Abolfazl, Rajab, under the supervision of Dr. Kayani, 2013. (Translation) Probiotics and their use in animal and poultry nutrition. Noorbakhsh Publishing House, Tehran.
- An introduction to microbiology, written by J. F. Wicklison. Translator: Dr. Shaisheta Sepehr, Fatemeh Motbari. Supplemental course of cold water fish breeding, 1373. Iran Fisheries Joint Stock Company, p. 106.
- Azari Takami, Q., 1384. The use of probiotics in improving environmental factors and growth and increasing immune resistance in aquatic animals.
- Azari Takami, Q., Ziainejad, S., Mirvaqfi, A., Shakuri, M., 1383. Effect of Aquatech Protoxin Probiotic on Growth and Survival of Indian White Shrimp Larvae. Iranian Veterinary Science Quarterly. first year. Number 1.
- Berg, R.D., 1996. The indigenous gastrointestinal microflora. Trends Microbiol 4, 430-450.
- Farahani, R., 2012. Management of salmon breeding in closed circuit system.
- Fazli, Z., 2014. Enrichment of *Artemia erumina* with yeast probiotic (Tepax) and the stability of enriched Artemia in different periods of enrichment and cold incubation. Master's thesis, Tehran University of Science and Research. Fisheries group.
- Frericks, N., Stewart, M., 2012. Isolation and identification of bacterial pathogens in fish. Translated by Mehdi Soltani, Isa Sharifpour and Maryam Qiyazi. First edition, Shams International Publications.
- Fuller, R., 1998. "Probiotics affecting the microecology of the gut. In: Fuller, R. ed. Probiotics the scientific basis. New York: Chapman and Hall, 111-44.
- Gatesoup, F.J., 1999. The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture: a review 180, 147-165.
- Hentges, D.J., 1983. Role of the intestinal flora in host defense against infection, P: 311-331.

- Irianto, A., Austin, B., 2002. Use of dead probiotic cells to control Furunculosis in rainbow trout. *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases 26, 59-62.
- Lovell, T., 1989. Nutrition and Feeding of fish. Auburn University, van Nostrand Rein hold, New York, 260 pp.
- Merrifeild D.L., Bradley G., Baker R. T. M., and Davies S. J., 2010. Probiotic application for rainbow trout ii. Effect on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria postantibiotic treatments. Aquaculture nutrition. 10: 1111. 1365- 2095.
- Nikoskelainen S., Quwehand A., Salminen S. and Bylund G. 2001. Protection of rainbow trout from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*. Aquaculture, 198: 229- 236.
- Pond, J., et al. 2006. Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the intestinal microflora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 261, 194-203.
- Ringo, E., Gatesoupe, F.J., 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquaculture 160, 177-203.
- Shepherd, J., Brumage, N., 1375. Dense breeding of fish. Translated by Masoudi Sattari, Mohammad Karim Motamed. First edition, Guilan University, p. 131.
- Spanggaard, B., Huber, H., Nielson, J., Nielson, T., Appel, K.F., Gram, L., 2000. The microflora of rainbow trout intestine: a comparison of traditional and molecular identification. Aquaculture 182, 1-15.
- Taqvi, S., 1384. A comparative study of growth and survival factors due to the addition of Thepox probiotic in the diet of rainbow salmon in the growth stage. Master thesis of Tehran University of Science and Research. Fisheries group.

Dominant bacterial flora of gut in Rainbow trout and probable important viewpoint probiotic

A. Mobarhanfard¹, A. Azimian^{2*}

¹ Department of Fisheries, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

Abstract

This research conducted for recognition of dominant bacterial flora of rainbow trout gut. 20 fingerlings of trout with average weight of 2gr, prepared by Isfahan Fisheries Authority in last winter. The stock of fish reared isolation tank, and during four months of rearing period, neither any disinfections nor antibiotic agents have been used. The temperature of farming tank maintained at the range of 10 to 16°C. After this period, the stock of fish pocked in ewo layer bags and transported at night time to lobaratory of science and Research Unit of Azad University in Tehran. All samples of fish arrived at healthy condition to laboratory. The average weight of fish measured as 30 ± 10 g, and total length of 8-12 cm. After word, the fish disinfected by 70% alcohol, and them by the strile apparatus the gut have been removed for primary and subtractive culture. The media used for culture was N.A, M.A, TSI, SIM, and recognition of positive or negative grams carried by staining. In addition, biochemical reagents like methyl red, oxidase – catalase test, sugar fermentation test, gelatin hydrolysis test and starch hydrolysis test for final recognition of bacteria and abundance ratio is carried out. Edwardzillata sp.(8%), itrobacrer sp. (10%), Shewanella sp.(30%), Haemophilus sp.(2%), Plesiomonas sp.(25%), Aero,onas sp.(25%) Dominant bacteria of gut flora in rainbow trout showed following species; Shewanella sp., Plesioonas sp. and Aeromonaa sp.

Keywords: Rainbow trout, Bacterial flora, Probiotic.

*Corresponding author; dr.mobrhan@gmail.com