



Isolation and identification of bacteria from water and sediment of *silver carp* broodstocks ponds

Mehran Avakh Keysami¹, Ali Mohammadpour², Mohammad Rahanandeh³, Afshar Zoughi shalmani³

¹Associate Professor, Aquatics and Fisheries Research Department, Gilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran. ²MSc, Environmental research Department, Guilan Environmental General Office of Environment, Iranian Environment Organisation, Rasht, Iran.

³Assistant Professor, Aquatics and Fisheries Research Department, Gilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

Abstract

In silver carp farming, infectious diseases caused by bacteria are one of the important causes of mortality that occurs following changes in the quality of the culture water. The aim of this study was to isolate and identify the bacterial flora of water and sediment in silver carp farming ponds in the Sangar of Rasht. Four farms with *Hypophthalmichthys molitrix* broodstocks (76.5 ± 0.99 kg) were considered as sampling sites. In order to isolate and identify the bacterial flora of water and sediment, the samples prepared individually were used for preliminary and differential microbial culture. The grown samples were re-cultivated, purified and their properties were identified to the species level based. No significant differences were observed in the study of the physicochemical variables of the water and the bacterial count of the sampled farms. Totally 11 genera were identified from the water and sediment of the breeding ponds, the most abundant of which were the genera *Bacillus*, *Aeromonas* and *Pseudomonas*. According to the results of this study, the difference in the density of gram-negative and gram-positive bacteria isolated from the samples was not significant. Although a large number of bacteria isolated in this study are known to be pathogenic, they are not primary pathogens and are considered part of the natural microflora in the body of aquatic animals, in seawater, estuaries and freshwater environments. Of course, in conditions of stress and degradation of the immune system of aquatic animals, they can become pathogenic.

Key words: silver carp, bacterial flora, *Hypophthalmichthys molitrix*, biolog, micolog.

Received: 28 November 2024

Revised: 5 January 2025

Accepted: 30 November 2025

Correspondence to: Mehran Avakh Keysami

Tel: +98 9111500864

E-mail: dr.keysami@gmail.com

Journal of Microbial World 2025, 17 (4): 300 - 312



Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.



جداسازی و شناسایی جمعیت‌های باکتریایی از آب و رسوب استخرهای پرورش ماهی کپور نقره‌ای

مهران آوخ کیسمی^{۱*}، علی محمدپور^۲، محمد رهاننده^۳، افشار ذوقی شلمانی^۳

^۱ دانشیار، بخش تحقیقات شیلات و آبزیان، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.
^۲ کارشناس ارشد، بخش تحقیقات زیست محیطی، اداره کل محیط زیست استان گیلان، سازمان حفاظت محیط زیست کشور، رشت، ایران.
^۳ استادیار، بخش تحقیقات شیلات و آبزیان، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

چکیده

در پرورش ماهی کپور نقره‌ای به دلیل روش تغذیه‌ای پوره‌خواری، بیماری‌های عفونی ناشی از باکتری‌ها یکی از عوامل مهم تلفات است که به دنبال تغییر کیفیت آب پرورشی ایجاد می‌گردد. هدف از این مطالعه جداسازی و شناسایی فلور باکتریایی آب و رسوب استخرهای پرورش ماهی کپور نقره‌ای منطقه سنگر رشت بود. چهار مزرعه دارای مولدین ماهی کپور نقره‌ای (هیپوفیتا/میکتیس مولی‌تریکس) با میانگین وزن 0.99 ± 0.76 کیلوگرم به‌عنوان محل‌های نمونه‌برداری در نظر گرفته شد. جهت جداسازی و شناسایی فلور باکتریایی آب و رسوب، نمونه‌های تهیه‌شده به‌صورت انفرادی برای کشت میکروبی مقدماتی و تفریقی استفاده شدند. نمونه‌های رشدیافته پس از کشت مجدد، خالص‌سازی و بر اساس جدول آزمایش‌های شیمیایی به بررسی و مطالعه خواص آن‌ها اقدام و تا حد گونه شناسایی گردیدند. در بررسی متغیرهای فیزیکوشیمیایی آب مزارع نمونه‌برداری شده و شمارش باکتری‌های آب مکان‌های نمونه‌برداری مولدین اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. بعد از جداسازی و تعیین صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی باکتری‌های جداسازی شده ۱۱ جنس از آب و رسوب استخرهای پرورش شناسایی گردید که فراوان‌ترین آن‌ها جنس‌های باسیلوس، آئروموناس و سودوموناس بودند. بر اساس نتایج این تحقیق، اختلاف تراکم باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت جداسازی شده از نمونه‌ها معنی‌دار نبود. اگرچه تعداد زیادی از باکتری‌های جداسازی شده در این تحقیق بیماری‌زا شناخته شده‌اند، اما پاتوژن اولیه نبوده و در بدن آبزیان، در آب دریا، مصب‌ها و محیط‌های آب شیرین به‌عنوان قسمتی از میکروفلورای طبیعی محسوب می‌شوند. البته در شرایط بروز استرس و تحلیل سیستم ایمنی بدن آبزیان می‌توانند بیماری‌زایی نمایند.

کلمات کلیدی: کپور نقره‌ای، فلور باکتریایی، هیپوفیتا/میکتیس مولی‌تریکس، بیولوگ، میکرولوگ.

پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۱۱/۱۱

ویرایش مقاله: ۱۴۰۳/۱۰/۱۶

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۹/۸

مقدمه

آبزی‌پروری، چالش‌هایی نظیر شیوع بیماری‌های ویروسی، باکتریایی، قارچی و انگلی، ناشی از کاهش کیفیت آب پرورش ماهی در اثر آلودگی‌ها و تراکم بالای ماهی پرورشی، به زیان‌های اقتصادی کلانی در این صنعت منجر شده است. بیماری‌های عفونی یکی از عوامل مهم خسارات اقتصادی در

آبزی‌پروری از چندین دهه گذشته به‌سرعت به یک صنعت پویا و روبه‌رشد تبدیل شده است (۱). همگام با افزایش

(* آدرس برای مکاتبه: بخش تحقیقات شیلات و آبزیان، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

پست الکترونیک: dr.keysami@gmail.com

تلفن: ۰۹۱۱۵۰۰۸۶۴



Hamidah (۲۰۲۰)، Mukherjee و همکاران (۲۰۱۶) باکتری‌های موجود در آب و دستگاه گوارش کپور هندی (*Catla catla*) و Ullah و همکاران (۲۰۲۲) باکتری‌های موجود در هجری‌های ماهی کپور نقره‌ای و ماهی کپور معمولی را جداسازی و شناسایی نمودند (۱۰-۱۲). Wu و همکاران (۲۰۱۲) و Ye و همکاران (۲۰۱۴) *آئروموناس* را به‌عنوان جنس غالب جداسازی شده از ماهی کپور نقره‌ای گزارش نمودند (۴ و ۶). با مشاهده برخی علائم و نشانه‌های بیماری‌ها و تلفات قابل توجه در ماهی‌های کپور نقره‌ای پرورشی منطقه سنگر رشت به‌منظور نیل به پیشگیری و کاهش عفونت‌های میکروبی، شناسایی و تشخیص به‌موقع آن‌ها امری ضروری به نظر می‌رسید. از طرف دیگر با توجه به این‌که در خصوص استخراج و شناسایی باکتری‌های بومی آب و رسوب استخرهای پرورش کپور نقره‌ای (*H. molitrix*) استخرهای پرورشی استان گیلان تحقیق چندانی انجام نشده است. انجام این تحقیق می‌تواند مطالعات پایه و زمینه‌ای مناسب برای کنترل بیماری‌ها و افزایش رشد و بازماندگی ماهی در استخرهای پرورشی باشد. بنابراین هدف از این مطالعه نیز ارزیابی و شناسایی جمعیت‌های باکتریایی آب و رسوب استخرهای پرورش ماهی کپور نقره‌ای پرورشی منطقه سنگر رشت بود.

مواد و روش‌ها

چهار مزرعه تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی در منطقه سنگر رشت که از مولدین کپور نقره‌ای با میانگین وزن بدن و طول کل و سن به‌ترتیب $(5/76 \pm 0/99)$ کیلوگرم و طول کل $(67/33 \pm 4/68)$ سانتی‌متر و سن $(4/99 \pm 0/38)$ سال برخوردار بودند به‌عنوان مکان‌های نمونه‌برداری در نظر گرفته شد. به‌منظور نمونه‌برداری از آب و رسوب از لوله پلیکای ضدعفونی شده با الکل اتیلیک ۷۰ درصد استفاده گردید. قبل از نمونه‌برداری شرایط مدیریتی استخر و فاکتورهای محیطی از جمله اکسیژن، دما، pH و حتی رنگ آب و وضعیت ظاهری ماهی‌ها بررسی و ثبت گردید. درجه‌حرارت و pH به وسیله یک دستگاه pH متر و حرارت‌سنج YSI اندازه‌گیری شد. اکسیژن

صنعت پرورش آبزیان به‌ویژه ماهی کپور نقره‌ای به دلیل روش تغذیه‌ای پوره خواری آن، محسوب می‌شوند. در بین عوامل ایجادکننده بیماری‌های عفونی آبزیان باکتری‌ها یکی از عوامل بیماری‌زای مهم بوده که به طور اولیه سبب عفونت زخم و به طور ثانویه سبب بروز مشکلات عفونی به دنبال تغییر دما، دست‌کاری و پایین‌بودن کیفیت آب پرورشی آبزیان می‌گردد فلور میکروبی دستگاه گوارش از عوامل دفاعی مهم در برابر باکتری‌های بیماری‌زا است (۲). با توجه به اینکه سرمایه‌گذاری‌های کلانی در بخش آبی‌پروری صورت می‌گیرد لذا شناخت و حل مشکلات و معضلات بهداشتی و بیماری‌های آن هر چه بیشتر ضروری است (۳). در این میان مهم‌ترین معضل بهداشتی و بیماری‌های ماهی پرورشی عوامل عفونی باکتریایی هستند. از طرفی همین باکتری‌ها جزء میکروفلورای آب و رسوب استخرهای پرورش و در نتیجه دستگاه گوارش ماهی نیز می‌باشند بنابراین شناسایی فلور باکتریایی ماهی از این نظر اهمیت دارد که باکتری‌های فرصت‌طلب بیماری‌زا در ماهی کپور نقره‌ای شناسایی می‌گردد (۴).

باکتری‌ها یکی از متنوع‌ترین و مهم‌ترین میکروارگانیسم‌ها محسوب می‌شوند. این موجودات ساختار ساده‌ای دارند و به گروه پروکاریوت‌ها تعلق دارند. باکتری‌ها انواع گوناگونی دارند. تعدادی از آن‌ها فلور باکتریایی طبیعی هستند و تعداد کمی از آن‌ها در آبزیان و سایر حیوانات، بیماری‌زا می‌باشند (۵). بررسی‌های متعددی از شناسایی و جداسازی باکتری‌ها برای به‌کارگیری آن‌ها به‌عنوان پروبیوتیک و همچنین به‌منظور شناسایی عوامل مولد بیماری‌ها جهت درمان سریع‌تر بیماری‌های آبزیان انجام گرفته است (۳ و ۶). Tung Pang و همکاران (۲۰۲۰) ۱۶۹ گونه باکتری از روده ماهی حوض (*Carassius auratus*) جداسازی نمودند (۷). Epikmen و همکاران (۲۰۲۰) باکتری‌های پانوژن و پروبیوتیک را در قرل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی کردند (۸). Pourasadi و همکاران (۲۰۲۵) با جداسازی فلور باکتریایی در فیل ماهی (*Huso huso*) به بررسی استفاده از آن‌ها به‌عنوان پروبیوتیک پرداختند (۹). Rahman و

حد گونه شناسایی گردیدند (۱۵). بررسی خواص مورفولوژیکی و بیوشیمیایی این باکتری‌ها بر اساس روش‌های میکروبیولوژی به شرح زیر انجام شد (۱۳ و ۱۶). پس از کشت باکتریایی و جداسازی و خالص‌سازی نمونه‌های باکتریایی رشدیافته، ابتدا تهیه گسترش و رنگ‌آمیزی گرم انجام گردید. پس از مشاهده مورفولوژی باکتری‌ها با انجام آزمایش‌های اکسیداز (Oxidase) و کاتالاز (Catalase)، حرکت (Motility)، اوره‌آز (Urease)، ژلاتیناز (Gelatinase)، ONPG، لیزین (Lysine)، آرژنین (Arginine)، اسکولین (Esculin)، ارنیتین (Ornithine)، لیپاز (Lipase)، سیترات (Citrate)، ایندول (Indole)، و گس پروسکوئر (Voges-Proskaur)، تولید سولفید هیدروژن (H₂S production)، اسید از گلوکز (Acid from Glucose)، اسید از اینوزیتول (Acid from Inositol)، اسید از مانیتول (Acid from Mannitol) و نمک مورد نیاز برای رشد باکتری‌ها (NaCl required for growth) به روش Kolb و همکاران (۲۰۱۹) انجام شد (۱۷).

پس از انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی، نتایج حاصله با روش ارائه شده توسط Soltani (۱۹۹۷)، Alsina و Blanch (۱۹۹۴) و Keysami و همکاران (۲۰۱۲)، مقایسه گردید (۱۳ و ۱۸). سپس از هر جنس حداقل یک نمونه به‌منظور بررسی صحت و سقم شناسایی بیوشیمیایی در دانشگاه پوترا در مالزی با استفاده از نرم‌افزار Biolog - microlog - soft ware تا حد گونه شناسایی شد (۱۹).

ب) تجزیه و تحلیل داده‌ها: میانگین داده‌های متغیرهای کیفیت آب، میانگین تعداد باکتری‌های گرم مثبت و منفی در نمونه‌ها و تکرارها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری $\alpha = 0.05$ در نظر گرفته شد. مقایسه داده‌های حاصل از نتایج بر اساس میانگین با محاسبه میزان خطای استاندارد (انحراف استاندارد $\pm$ میانگین) ارائه شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد (۲۰).

محلول نیز با اکسیژن متر YSI، مدل ۵V (USA) و آمونیاک با استفاده از آمونیاک سنج هانا، (HI ۹۳۷۱۵, Taiwan) اندازه‌گیری گردید. نمونه‌های آب و رسوب به طور جداگانه در کیسه‌های پلاستیکی و آلومینیومی استریل پیچیده شدند و در ظروف محتوی یخ فوراً به آزمایشگاه میکروبیولوژی منتقل گردیدند. همه نمونه‌ها وزن و با آب مقطر استریل یک‌دست گردید و تا ۱۰ برابر رقیق‌سازی صورت گرفت. ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت در سه تکرار روی پلیت‌های محیط کشت پخش شد (۱۳). چند نوع محیط کشت باکتری‌شناسی برای جداسازی اولیه و شمارش کلی باکتری‌ها (TPC) از آب و رسوب و شمارش باکتریایی آب مخازن پرورشی محل نمونه‌برداری شامل TCBS (Thiosulfate Citrate Bile salts Sucrose Agar), TSA (Tryptic Soy Agar), TSB (Tryptic Soy Broth), (Triple Sugar Iron agar) TSI, (Nutrient agar), (Mac conkey agar) MCA, (Nutrient broth) NA NB, و (Pepton Water) PW در این تحقیق استفاده شد. محیط کشت‌های NA و TSA برای شمارش باکتری‌های هتروترفیک هوازی، TSA برای جداسازی باکتری‌های هتروترفیک غیرانتخابی، MCA برای انتروباکتریاسه (*Enterobacteriaceae*)، TCBS برای جنس ویبریو و *آئروموناس* و محیط جداکننده سودوموناس (PA) برای جداسازی سودوموناس، آب پپتوم و NB و TSB برای کشت اولیه باکتری‌ها و انبوه‌سازی آماده شدند (۵). همه پلیت‌ها برای ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۲۷ الی ۳۰ درجه سلسیوس در گرمخانه پرورش داده شد، به جز پلیت مک‌کانکی که در ۳۷ درجه سلسیوس پرورش یافت. بعد از اتمام مدت زمان مذکور پلیت‌هایی که از ۳۰ تا ۳۰۰ پرگنه روی آن‌ها تشکیل شده بود شمارش شدند (۱۴). رشد باکتری با کدر نمودن محیط مایع و ظهور پرگنه بر روی محیط کشت جامد مشخص گردید.

الف) شناسایی گونه‌های جداسازی شد: نمونه‌های رشدیافته پس از کشت مجدد، خالص‌سازی و بر اساس جدول آزمایشات شیمیایی و بیوشیمیایی اقدام به بررسی و مطالعه آن‌ها نموده و تا

یافته‌ها

باکتری‌های جنس ویبریو و آئروموناس روی TCBS و میانگین تعداد کل باکتری‌های سودوموناس روی محیط جداکننده سودوموناس (PA)، در آب مخازن پرورشی و دستگاه گوارش مولدین کپور نقره‌ای در جدول ۱ نشان داده شد. براساس نتایج مذکور، اختلاف تراکم میانگین تعداد کل باکتری‌های جداسازی شده بین آب مخازن پرورشی و دستگاه گوارش مولدین کپور نقره‌ای روی محیط کشت‌های مختلف معنی‌دار بود ($P < 0/05$). اختلاف معنی‌داری در شمارش باکتریایی مزارع نمونه‌برداری وجود نداشت ($P > 0/05$). بر اساس نتایج آزمایش‌های بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی پرگنه‌های جداسازی شده (جدول ۲)، جدایه‌ها در ۱۱ گروه مختلف قرار گرفتند (جدول ۳).

اساس این گروه‌بندی نتایج تست‌های بیوشیمیایی به شرح جدول ۲ بود. ۱۱ جنس از نمونه‌های آب و رسوب مخازن پرورشی شناسایی گردید که فراوان‌ترین آن‌ها باسیلوس، آئروموناس و سودوموناس بودند. سپس از هر جنس حداقل یک نمونه به‌منظور بررسی صحت و سقم شناسایی بیوشیمیایی با استفاده از نرم‌افزار Biolog - microlog - soft ware تا حد گونه شناسایی شد. نتیجه شناسایی باسیلوس در شکل ۱ و آئروموناس در شکل ۲ نشان داده شد. باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌ها غالباً گرم منفی بود اگرچه نمونه‌های گرم مثبت نیز مانند باسیلوس، میکروکوکوس و استافیلوکوکوس مشاهده شد (جدول ۴).

در بررسی متغیرهای فیزیکی‌وشیمیایی آب مزارع نمونه‌برداری شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($p > 0/05$) به‌طوری‌که دما از $26/57 \pm 0/25$ الی $27/23 \pm 0/31$ درجه سلسیوس، اکسیژن محلول از $5/4 \pm 0/4$ الی $5/7 \pm 0/4$ میلی‌گرم در لیتر، pH از $7/2 \pm 0/31$ الی $7/3 \pm 0/22$ و آمونیاک از $0/12 \pm 0/04$ الی $0/02 \pm 0/008$ در نوسان بود. شمارش باکتریایی آب محل‌های نمونه‌برداری مولدین نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($p > 0/05$). میانگین تعداد کل باکتری‌های هتروتروفیک غیرانتخابی روی محیط کشت TSA، 310 ± 169 ، $(CFU \times 10^4 / ml)$ و 16000 ± 37 $(CFU \times 10^4 / gr)$ بود. میانگین تعداد کل باکتری‌های آنتروباکتریاسه (*Enterobacteriaceae*) روی محیط MC، میانگین تعداد کل

جدول ۱: میانگین تعداد کل باکتری‌های آب و رسوب در مخازن پرورشی محل‌های نمونه‌برداری مولدین کپور نقره‌ای (میانگین $\pm$ Sd، $CFU \times 10^4 / g$ و $CFU \times 10^4 / ml$ ، $n=3$).

محیط کشت انتخابی	تعداد کل باکتری‌های آب $(CFU \times 10^4 / ml)$	تعداد کل باکتری‌های رسوب $(CFU \times 10^4 / gr)$
TSA	3100 ± 169	16000 ± 37
MacConkey agar	7600 ± 19700	6200 ± 162
TCBS aga	$2/1 \pm 0/10$	$81 \pm 37/80$
Pseudomonas Isolating agar	$0/03 \pm 0/001$	$3/30 \pm 1/10$

حروف غیر همسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است ($P < 0/05$)

جدول ۲: ویژگی‌های بیوشیمیایی جدایه‌های اصلی جداسازی شده بر اساس نتایج تست‌های بیوشیمیایی.

Main Groups	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Gram	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-
Cell shape	rod	Curved rod	Short rod	rod	cocci	rod	rod	rod	cocci	rod	Short rod	Rod
Oxidase	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Motility	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
Urease	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
Gelatinase (35°C)	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-
ONPG	-	-	+	+	d	+	-	+	-	+	+	+
Lysine	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-
Arginine	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-
Esculin	-	d	+	+	+	+	-	+	d	+	+	+
Ornithine	-	+	-	+	-	d	-	+	-	+	+	+
Lipase	+	+	+	-	d	d	+	d	-	+	d	-
Citrate	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+
Indole	d	+	+	-	+	-	+	-	+	+	d	+
Voges-Proskaur	+	+	+	d	d	+	d	+	-	-	+	-
H2S production	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-
Acid from Glucose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
Acid from Inositol	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+
Acid from Mannitol	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
Nacl required for growth	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

دنیای میکروب‌ها، سال هفدهم شماره چهارم، زمستان ۱۴۰۳. جداسازی و شناسایی جمعیت‌های باکتریایی از آب و رسوب. مهران آوخ‌کیسمی و همکاران.

Program	: Biolog MicroLog3 4.20
Save To File	:
Unrestricted Access?	: Yes
Read Time	: Sep 16 2022 08:57
Parent File	:
Plate Number	: 1
Incubation Time	: 16-24
Sample Number	: B1
Strain Type	: GP-ALL
Strain Number	:
Strain Name	:
Other	:
Data Input Mode	: Reader
590/750 Filters Used	: 6 / 5
Threshold Mode	: Automatic: Color: -33/46
Number +/- Reactions	: 23 / 17 / 56
Database To Search	: MicroLog
Data Base(s) Searched	: C:\BIOLOG420\Databases\GP601.KID

Plate Type: GP2

Key : <>>: positive; <>: mismatched positive; X: negative; X+: mismatched negative
<X>: borderline; -X: less than A1 well

Color	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	{ 0}	{ -1}	< 178>	< 168>	-58	-69	-207+	< 87>	-111+	{ 12}	{ -14}	-183
B	-101	-243	{ -9}	{ 10}	-205	-52	-140	-188	-122	-52	< 67>	-141
C	-162	-107	< 183>	-58+	-83	-296+	-116	-89	-186	-103	-89	-138
D	-122	{ -30}	-126	-92	-88	-76	< 189-	{ 34}	-67	-185	-33	{ 16}
E	-113	< 88>	< 103>	-119	-50	{ -15}	-176	{ -14}	< 85-	-152	-86	< 129>
F	-82	-66	{ -16}	-193	-53	-168	-68	-51	< 195>	{ -23}	-138	{ 1}
G	-197	-64	< 117>	< 136>	-37	< 120>	-104	-83	< 136>	-77	-33	< 354>
H	< 261>	{ 26}	< 284>	< 270>	< 208>	< 126>	< 149>	< 116>	-100	-66	{ 31}	{ 9}

-> Species ID: Bacillus cereus/thuringiensis <-

Species	PROB	SIM	DIST	TYPE
->1) Bacillus cereus/thuringiensis	96	0.54	6.87	GP-ROD SB
2) Staphylococcus sciuri	3	0.01	8.06	GP-COC CAT+
3) Staphylococcus intermedius	0	0.00	8.69	GP-COC CAT+
4) Bacillus mycoides	0	0.00	8.72	GP-ROD SB
5) Staphylococcus aureus ss aureus	0	0.00	8.99	GP-COC CAT+
6) Staphylococcus xylosus	0	0.00	10.18	GP-COC CAT+
7) Staphylococcus carnosus	0	0.00	10.51	GP-COC CAT+
8) Staphylococcus muscae	0	0.00	10.57	GP-COC CAT+
9) Staphylococcus hyicus	0	0.00	11.04	GP-COC CAT+
10) Staphylococcus schleiferi	0	0.00	11.22	GP-COC CAT+
Other)				

Print Time = Sep 16 2022 08:58

Page 1 of 1 pages

شکل ۱: شناسایی باکتری *Bacillus cereus* با نرم‌افزار بیولوگ.

Program	: Biolog MicroLog3 4.20
Save To File	:
Unrestricted Access?	: Yes
Read Time	: Oct 15 2022 15:41
Parent File	:
Plate Number	: 1
Incubation Time	: 16-24
Sample Number	: 10.1
Strain Type	: GN-ALL
Strain Number	:
Strain Name	:
Other	:
Data Input Mode	: Reader
590/750 Filters Used	: 6 / 5
Threshold Mode	: Automatic: Color: 78/118
Number +/- Reactions	: 45 / 2 / 49
Database To Search	: MicroLog
Data Base(s) Searched	: C:\BIOLOG420\Databases\GN601.KID

Plate Type: GN2

Key : <>>: positive; <>: mismatched positive; X: negative; X+: mismatched negative
<X>: borderline; -X: less than A1 well

Color	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	7	< 814>	< 620>	< 337>	< 387>	4	< 661>	1	< 357>	18+	18
B	8	< 641>	52	< 238>	51	< 711>	0	< 239>	18	< 837>	< 735>	< 631>
C	26	< 825>	54+	21	65	< 324>	< 915>	< 917>	49+	5	< 236>	{ 93}
D	< 162>	19	13	4	< 283>	< 228>	< 557>	12	< 271>	25	12	5
E	17	-5	-5	-2	27	67	-4	< 134>	10	19	3	< 460>
F	< 204>	{ 80}	48	28	< 191>	< 273>	< 360>	< 756>	< 638>	< 350>	< 439>	< 170>
G	< 277>	7	21	16	33	< 306>	-6	< 586>	< 527>	5	60	10
H	6+	< 594>	< 494>	< 217>	3	11	11	< 333>	< 237>	< 570>	< 647>	

-> Species ID: Aeromonas hydrophila-like DNA group 3 <-

Species	PROB	SIM	DIST	TYPE
->1) Aeromonas hydrophila-like DNA group 3	100	0.54	7.27	GN-NENT OX+
2) Aeromonas hydrophila DNA group 1	0	0.00	9.29	GN-NENT OX+
3) Aeromonas encheleia	0	0.00	9.81	GN-NENT OX+
4) Aeromonas allosaccharophila	0	0.00	10.97	GN-NENT OX+
5) Aeromonas eucrenophila DNA group 6	0	0.00	11.07	GN-NENT OX+
6) Vibrio fluvialis	0	0.00	11.19	GN-NENT OX+
7) Aeromonas media-like DNA group 5A	0	0.00	11.65	GN-NENT OX+
8) Salmonella gp 1 (choleraesuis) ST typhimurium	0	0.00	12.01	GN-NENT
9) Vibrio cholerae O1/O139	0	0.00	12.07	GN-NENT OX+
10) Aeromonas veronii/sobria DNA group 8	0	0.00	12.41	GN-NENT OX+
Other)				

Print Time = Oct 15 2022 15:44

Page 1 of 1 pages

شکل ۲: شناسایی باکتری *Aeromonas hydrophila* با نرم‌افزار بیولوگ.

جدول ۳: فراوانی نسبی جدایه‌های گرم مثبت و گرم منفی از استخرهای پرورش کپور نقره‌ای (*H. molitrix*).

گروه	جنس باکتری	رنگ آمیزی گرم	تعداد	%
1	<i>Aeromonas</i>	-	۴	۱۱/۷۶
2	<i>Acidovorax</i>	-	۱	۲/۹۴
3	<i>Escherichia</i>	-	۳	۸/۸۲
4	<i>Alcaligenes</i>	-	۲	۵/۸۸
5	<i>Micrococcus</i>	+	۵	۱۵/۱۰
6	<i>Corynebacterium</i>	+	۴	۱۱/۷۱
7	<i>Staphylococcus</i>	+	۲	۵/۸۸
8	<i>Vibrio</i>	-	۱	۲/۹۴
9	<i>Pseudomonas</i>	-	۴	۱۱/۷۱
10	<i>Brevibacterium</i>	+	۱	۲/۹۴
11	<i>Bacillus</i>	+	۶	۱۷/۶۵
12	Unidentified	-	۱	۲/۹۴
جمع			۳۴	۱۰۰

بحث

نتایج بررسی ویژگی‌های فیزیوشیمیایی آب استخرهای نمونه‌برداری شده نشان داد که اختلاف معنی‌دار آماری بین متغیرهای فیزیکی و شیمیایی استخرهای نمونه‌برداری شده وجود ندارد ($p > 0.05$). شرایط فیزیوشیمیایی به‌دست آمده از مزارع پرورش ماهی مورد بررسی در حدود شرایط فیزیوشیمیایی مطلوب مورد نیاز برای کشت و پرورش ماهی کپور نقره‌ای بود (۳). این مهم می‌تواند به کیفیت آب محیط پرورش آبی مربوط باشد. به‌طوری که در صورت تراکم بالای پرورش آبی و در شرایط pH بالاتر و کیفیت نامناسب آب محیط پرورش، تراکم باکتری‌های گرم منفی بالاتر می‌رود (۲۱ و ۲۲).

تعداد کل باکتری‌های (TPC) آب و رسوب روی محیط TSA (23000 ± 193) ($CFU \times 10^4/g$) بود. آب و رسوب به‌ویژه رسوب استخر پرورش ماهی، از باکتری‌های متنوعی تشکیل شده است که با استقرار در محیط باعث تجزیه مواد عالی ناشی از غذادهی، شکوفایی پلانکتونی و فضولات ماهی پرورشی گردیده مانع فعالیت میکرواورگانیزم‌های غیرمفید و پاتوژن و یا

بر عکس، باعث حذف باکتری‌های مفید و سودمند می‌شود (۲۳). باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌ها غالباً گرم منفی بودند و قبلاً توسط Merrifield و همکاران (۲۰۱۴) در پرورش کپور ماهیان چینی گزارش شده بود ولی برخلاف این نتایج، غالب باکتری‌های جداسازی شده از آب پرورش دافنی و تکثیر تیلاپیا، باکتری‌های گرم مثبت بودند (۲۴). در این تحقیق باکتری‌های گرم مثبت از انواع باسیلوس، کورینه باکتریوم، میکروکوکوس و استافیلوکوکوس اورئوس بودند که باسیلوس و کورینه باکتریوم در مطالعات قبلی گزارش گردیده بود. جنس اصلی فلور باکتریایی در این مطالعه مشابه جنس‌هایی بود که به وسیله Monghit-Camarin و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شده است. آلترموناس، سیتوفازا، فوتوباکتریوم، زانتوموناس و استرپتوموناس که در مطالعات دیگر گزارش شده بود، در این مطالعه شناسایی نشد و گونه سودوموناس به‌عنوان گونه غالب گزارش شد. این نتایج با گزارش‌های قبلی که به‌وسیله Monghit-Camarin و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد مطابقت داشت. باکتری‌های گرم مثبت غالباً مهمترین میکرواورگانیزم‌های پروبیوتیک بوده که شامل باکتری‌های متنوعی مانند *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium sp.* و *Bacillus sp.* می‌باشد (۲۵). اکثر باکتری‌ها بی‌خطر بوده و ممکن است آنتاگونیست باکتری‌های پاتوژن باشد و در این صورت با ورود و استقرار در محیط دستگاه گوارش می‌توانند تعادل میکروبی را در جهت سلامت و سودمندی آن‌ها افزایش دهند. علاوه بر این پروبیوتیک‌ها با سنتز برخی مواد ضروری، نقش مهمی در حفظ سلامتی فرد مصرف‌کننده ایفا می‌کنند (۳ و ۶). غالب بودن آئروموناس و سودوموناس در این مطالعه در مطالعه بر روی ماهی کپور معمولی و تیلاپیا و آب پرورش لارو ماکروبراکیوم روزنبرگی (*M. rosenbergii*) گزارش شده است (۵).

باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌ها در این تحقیق شامل باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت بودند اما نتایج تحقیقات جداسازی باکتریایی در پرورش کپور ماهیان چینی (۲۲)، در بررسی فلور باکتریایی ماهی علفخوار

پرورش مولدین ppt ۰ بود و فلور باکتریایی آب و رسوب ۱۱ جنس بود.

مشابه مطالعه Mukherjee و همکاران (۲۰۱۶)، در این مطالعه گونه *Pseudomonas* به‌عنوان گونه غالب گزارش شد (۱۰). این نتایج با گزارش‌های قبلی به‌وسیله Merrifield و همکاران (۲۰۱۴)، Monghit-Camarin و همکاران (۲۰۲۰)، Rimoldi و همکاران (۲۰۲۰)، Mohanta و همکاران (۲۰۲۰)، Rahman و Hamidah (۲۰۲۰) Poursadi و همکاران (۲۰۲۵) مطابقت داشت (۵-۱۰، ۱۱، ۲۳، ۳۰ و ۳۱) اما Najem و Jalil (۲۰۲۴) و Mandal و Ghosh (۲۰۱۷) *آئروموناس* را به‌عنوان جنس غالب جداسازی شده از ماهی کپور نقره‌ای گزارش نمودند (۳۱ و ۳۲). Epikmen و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی باکتری‌های پروبیوتیکی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) گونه‌های *Bacillus* را با فراوانی بیشتر نسبت به دیگر باکتری‌ها شامل (*Lactobacillus sp.*)، (*Aeromonas sp.*)، (*Streptococcus sp.*)، (*Leuconostoc sp.*) و (*Carnobacterium sp.*) گزارش نمودند (۸). Tung Pang و همکاران (۲۰۲۰) ۱۶۹ گونه باکتری عمدتاً ترکیبی از باسیل‌های گرم مثبت را در ماهی حوض (*Carassius auratus*) گزارش کردند (۷). غالب بودن *Aeromonas* و *Pseudomonas* در این مطالعه همچنین در تحقیقات دیگر روی ماهی کپور معمولی (*C. carpio*)، کپور نقره‌ای (*H. molitrix*) و کپور علف‌خوار (*Ctenopharhyngoden idella*) و تیلاپیا (*Tilapia*) و لارو ماکروبراکیوم (*M. rosenbergii*) گزارش شده است (۳۳ و ۳۵).

جمعیت غالب فلور باکتریایی جداسازی شده در این تحقیق، قبلاً توسط کیسمی و همکاران (۲۰۲۲) از دستگاه گوارش مولدین ماهی کپور نقره‌ای پرورشی جداسازی شده بود و شامل *آئروموناس*، *سودوموناس* و *باسیلوس* بوده است (۳۴ و ۳۵). در تحقیقی مشابه (۵) ۱۴ جنس از ۱۵ جنس جداسازی شده از آب و ماهی پرورشی با گونه‌های جداسازی شده از آب محیط پرورش مشترک بودند و یک ترکیب باکتریایی در روده لارو ماهی تیلاپیا، مشابه با آن‌هایی که در آب استخر بودند گزارش گردید. همچنین از ۹ جنس جداسازی شده از لارو کپور

(*Ctenopharhyngodenidella*) و در پرورش ماهی کپور نقره‌ای توسط Khan و همکاران (۲۰۱۱) باکتری‌های غالب جداسازی شده گرم منفی بودند. همچنین Hosseinzadeh و Tokmehchi (۲۰۱۵) تعداد شش سویه باکتری *Aeromonas hydrophila* که گرم منفی است از ماهی کپور معمولی بیمار از ده مزرعه پرورشی آذربایجان غربی جداسازی نمودند (۲۶). این مهم می‌تواند به کیفیت آب محیط پرورش آبی مربوط باشد. به‌این ترتیب که در صورت تراکم بالای پرورش آبی و در شرایط pH بالاتر و کیفیت نامناسب آب محیط پرورش، تراکم باکتری‌های گرم منفی بالاتر می‌رود (۲۱). باکتری‌های گرم مثبت جداسازی شده در این تحقیق از انواع گونه‌های *باسیلوس*، *کورینه باکتریوم*، *میکروکوکوس* و *استافیلوکوکوس* بودند که *باسیلوس* و *کورینه باکتریوم* در مطالعات سایرین در پرورش لارو کپور معمولی (۴)، پرورش لارو *M. rosenbergii* (۱۰)، پرورش ماهی کپور نقره‌ای (*H. molitrix*) (۲۷) و در پرورش میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) (۲۸) در آب و رسوب گزارش گردیده بود، اما وجود باکتری‌های گرم مثبت در تحقیق دیگری که در پرورش لارو کپور معمولی (۲۹) و در تحقیق در پرورش *M. rosenbergii* (۱۲) انجام شده بود، گزارش نشد. همچنین *باسیلوس* در تحقیق Ullah و همکاران (۲۰۲۲) در ماهی کپور نقره‌ای که در آب شیرین انجام شده بود، گزارش نگردید. جنس‌های اصلی جداسازی شده در این تحقیق شامل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، مشابه جنس‌هایی بود که به‌وسیله Hagi و همکاران (۲۰۰۴) در ماهی کپور نقره‌ای (*H. molitrix*) گزارش گردید (۳۰). باکتری‌های *Photobacterium*، *Aeromonas*، *Cytophaga* و *Xanthomonas* که قبلاً در فیل ماهی در آب شیرین توسط Poursadi و همکاران (۲۰۲۵) و Ullah و همکاران (۲۰۲۲) در ماهی کپور نقره‌ای گزارش شده بود (۱۰ و ۱۲)، در این مطالعه شناسایی نشد. دلیل جداسازی تنوع کمتری از باکتری‌ها در این مطالعه را شاید بتوان به تعداد کمتر مزارع نمونه‌برداری شده و مقیاس پایین‌تر توده‌های جداسازی شده در این مطالعه نسبت داد. در این مطالعه شوری آب محیط

گوارش آن وارد گردیده و پس از برداشت ماهی در صورت عدم رعایت مراقبت‌های بهداشتی پس از صید می‌تواند برای سلامت انسان مخاطره‌آمیز باشد. تنوع و تراکم باکتری‌های جداسازی شده مزارع پرورشی به کیفیت آب محیط پرورش آن مربوط است به‌طوری‌که در صورت تراکم بالای ماهی‌پرورشی و در شرایط pH بالاتر و کیفیت نامناسب آب محیط پرورش، تراکم باکتری‌های گرم‌منفی به‌ویژه بیماری‌زا بالاتر می‌رود. بنابراین برای مدیریت کیفیت آب مورد استفاده برای پرورش ماهی کپور تهره‌ای باید از عدم ورود آلودگی‌ها، عدم استفاده از کود حیوانی تر و سلامت بهداشتی کود و بارورکننده‌هایی که برای ایجاد بوم فیتوپلانکتونی برای تغذیه ماهی پرورشی در استخر استفاده می‌گردد، اطمینان حاصل نمود.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمامی نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

در انجام این تحقیق از همکاری و مساعدت کارکنان آزمایشگاه مرکز آموزش علوم و صنایع شیلاتی میرزا کوچک‌خان و کارگاه تکثیر ماهی آقای فاضلی، مزرعه شالیزار نوین و آزمایشگاه پروفیسور قمر سیجام دانشگاه پوترا مالزی بهره‌مند گردیده‌ایم که به‌این‌وسیله از ایشان قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

وجود ندارد.

معمولی (*Cyprinus carpio*)، ۵ جنس از آب محیط پرورش آن نیز جداسازی گردید. در مطالعه مذکور جمعیت غالب باکتری‌های دستگاه گوارش ماهی‌ها در آب محیط پرورش هم وجود داشتند و شامل *آئروموناس*، *سودوموناس* و میکروکوکوس بودند. باکتری‌های دستگاه گوارش آبزیان با فلور باکتریایی محیط‌زیست‌شان به واسطه تغذیه آن‌ها تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۱۹ و ۲۰).

از آنجایی‌که زیستگاه ماهی در آب و رسوبات استخر است، جمعیت غالب باکتری‌های دستگاه گوارش ماهی فلور باکتریایی آب و رسوبات استخر پرورش ماهی است (۳-۴، ۲۱، ۳۶ و ۳۷). به‌عبارت دیگر، انواع مشابه باکتری‌هایی که از دستگاه گوارش ماهی و آب محیط پرورش آن‌ها جداسازی گردیده و فلور میکروبی ماهی را تشکیل می‌دهد از طریق تغذیه وارد دستگاه گوارش ماهی شده‌اند (۲۹ و ۵) و جریان آب تاثیر محیط اطراف را روی فلور میکروبی آبزیان افزایش می‌دهد (۱۷ و ۳۸). گرچه تعداد زیادی از باکتری‌های جداسازی شده در این تحقیق بیماری‌زا نشان دادند (۳۹) اما آن‌ها پاتوژن اولیه نیستند (۵ و ۴۰) و در درون و سطح بدن آبزیان و در آب دریا، مصب‌ها و محیط‌های آب شیرین به‌عنوان قسمتی از میکروفلورای طبیعی بدن آبزیان محسوب می‌شوند (۲۱) و شاید در شرایط بروز استرس و تحلیل سیستم ایمنی بدن آبزیان بیماری‌زایی نمایند (۵ و ۳۴).

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به‌دست آمده در این تحقیق تعداد زیادی از باکتری‌های جداسازی‌شده بیماری‌زا نشان دادند. اگرچه به‌عنوان قسمتی از میکروفلورای طبیعی بدن آبزیان محسوب می‌شوند و شاید در شرایط بروز استرس و تحلیل سیستم ایمنی بدن آبزیان بیماری‌زایی نمایند، اما بیماری‌های عفونی باکتریایی یکی از عوامل مهم خسارات اقتصادی در پرورش ماهی کپور تهره‌ای به دلیل روش تغذیه پوره‌خواری آن، محسوب می‌شوند. از طرف دیگر همین باکتری‌های آب و رسوب استخرهای پرورش در نتیجه روش تغذیه پوره‌خواری ماهی کپور تهره‌ای به دستگاه

References

1. Avakh Keysami M, Akbari Kashli A, Abdollah Pourbiriya H, Avakh Keysami M. The effectiveness of *Micrococcus luteus* bacteria on some blood and immune indices of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Animal Biology, 2025; 17(4): 115-128. (in Persian).
2. Behera BK, Bera AK, Paria P, Das A, Parida PK. Identification and pathogenicity of *Plesiomonas shigelloides* in Silver Carp. Aquaculture. 2018; 493(1): 314-318.
3. Cecilia B, Daniela R, Mioara C. Research on bacterial disease in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.), farmed in pond. International Multidisciplinary Scientific GeoConference. 2018; 18 (6.2): 505- 515. DOI:10.5593/sgem2018/6.2/S25.067.
4. Shi F, Huang Y, Yang M, Lu Z, Li Y, Zhan F, Lin L, Qin Z. Antibiotic-induced alternations in gut microflora are associated with the suppression of immune-related pathways in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). Frontiers in Immunology. 2022;13:970125.
5. Monghit-Camarin MA, Cruz-Lacierda ER, Pakingking Jr R, Cuvín-Aralar ML, Traifalgar RF, Añasco NC, Austin F, Lawrence M. Bacterial microbiota of hatchery-reared freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). Asian Fish. Sci. 2020;33:241-8.
6. Luo M, An R, Fu J, Wan S, Zhu W, Wang L, Dong Z. Comparative analysis of the gut microbiota in bighead carp under different culture patterns. Journal of Applied Microbiology. 2022 Feb 1;132(2):1357-69.
7. Tung Pang S, Ransangan J, Hatai K. Isolation, Identification and Preliminary Characterization of Candidate Probiotic Bacteria from the Intestine of Domesticated Goldfish (*Carassius auratus*). Journal of fisheries and environment. 2020; 44 (2): 39-52.
8. Epikmen, Erkmen T., Hamdi Avci, T. Tansel Tanrikul, S. Serap Birincioğlu, and Ahmet Aydoğan. "Pathological and microbiological investigations of naturally infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with *Flavobacterium psychrophilum*." (2020): 172-178.
9. Pourasadi M, Sattari M, Avakh keysami M, Zamani H. Microbial treatment of effluent from elephantfish (*Huso huso*) breeding tanks under the influence of different concentrations of a mixture of *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Nitrosomonas* and *Nitrobacter* bacteria in the water circulation system. Aquatic Physiology and Biotechnology, 2025; 12(4): 39-56. (in Persian).
10. Mukherjee A, Ghosh K. Antagonism against fish pathogens by cellular components and verification of probiotic properties in autochthonous bacteria isolated from the gut of an Indian major carp, *Catla catla* (Hamilton). Aquaculture Research. 2016;47(7):2243-55.
11. Rahman MM, Hamidah H. Water quality influence the phytoplankton and bacteria abundance: a comparison between shallow freshwater and saltwater ponds. Desalination and Water Treatment. 2020;188:436-43.
12. Ullah R, Qureshi AW, Sajid A, Khan I, Ullah A, Taj R. Percentage incidences of bacteria in Mahseer (*Tor putitora*), silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fish collected from hatcheries and local markets of District Malakand and Peshawar of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. Brazilian Journal of Biology. 2022;84:e251747.

13. Avakh Keysami M, Akbari Kashli A, Abdollah Pourbiriya H, Avakh Keysami M. Investigation of the effect of *Micrococcus luteus* bacteria on growth efficiency, digestibility and bacterial load of the digestive tract of common carp (*Cyprinus carpio*, L). Wetland Ecobiology. 2024; 16(60): 1-14. (in Persian).
14. Kafilzadeh F, Mirzaei N, Kargar M. Isolation and identification of mercury-resistant bacteria from water and sediments of the Kur River. Journal of Microbial World. . 2008; 1(1), 43-49. (in Persian).
15. Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JR, Manual BS. Systematic bacteriology. The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria, Bergey's Manual Trust, Department of Microbiology and Molecular Genetics. 2005;2.
16. Topić Popović N, Kepec S, Kazazić SP, Strunjak-Perović I, Bojanić K, Čož-Rakovac R. Identification of environmental aquatic bacteria by mass spectrometry supported by biochemical differentiation. PLoS One. 2022 Jun 3;17(6):e0269423.
17. Kolb SA, O'Loughlin EJ, Gsell TC. Characterization of phthalate-degrading bacteria from Asian carp microbiomes and riverine sediments. International Biodeterioration & Biodegradation. 2019; 143: 104727.
18. Keysami M A, Mohammadpour M, Saad CR. Probiotic activity of *Bacillus subtilis* in juvenile fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) at different methods of administration to the feed. Journal of Aquaculture International. 2012; 20: 499-511.
19. Keysami MA, Saad CR, Daud HM, Sijam K, Alimon AR. Comparison probiotic ability of three putative bacteria in juvenile *Macrobrachium rosenbergii* based on in vitro bacteria growth characteristics. Malaysian journal of Animal Science. 2005; 11(1): 61-71.
20. Daniel WW, Cross CL. Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences. John Wiley & Sons; 2018 Nov 13.
21. Li X, Zhou L, Yu Y, Ni J, Xu W, Yan Q. Composition of gut microbiota in the gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) varies with host development. Microbial ecology. 2017;74(1): 239-49.
22. Frozza A, Fiorini A, Vendruscolo EC, Rosado FR, Konrad D, Rodrigues MC, Ballester EL. Probiotics in the rearing of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) in a biofloc system. Aquaculture Research. 2021;52(9):4269-77.
23. Mohanta MK, Mallick P, Haque MF, Hasan MA, Saha AK. Isolation of probiotic bacteria from *Macrobrachium rosenbergii* and their antagonistic efficacy against pathogenic bacteria. Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research. 2020;6(3):30-40.
24. Najem ES, Jalil OG. Isolation and identification of Pathogenic Bacteria from *Cyprinus carpio* L. by Vitek 2 System. Diyala Journal for Veterinary sciences. 2024;2(2):62-70.

25. Dutta D, Banerjee S, Mukherjee A, Ghosh K. Potential gut adherent probiotic bacteria isolated from rohu, *Labeo rohita* (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae): Characterisation, exo-enzyme production, pathogen inhibition, cell surface hydrophobicity, and bio-film formation. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*. 2018;48:221-33.
26. Hosseinzadeh M, Tokmehchi A. Isolation and identification of enterotoxin-producing *Aeromonas hydrophila* from Common carp (*Cyprinus carpio*), *Journal of Animal Environment*. 2015; 7 (4): 173-178. (in Persian).
27. Razavilar V, Khani MR, Motallebi AA. Bacteriological study of cultured silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in Gilan province, Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 2013; 12(3): 689- 701.
28. Ziyarti M, Avakh Keysami M, Kafilzadeh F. Isolation and identification of microflora from rearing ponds and the digestive tract of western white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and their evaluation as probiotics. *Journal of Microbial World*. 2012; 5(3-4 (13)): 122-131. (in Persian).
29. Ruzauskas M, Armalytė J, Lastauskienė E, Šiugždinienė R, Klimienė I, Mockeliūnas R, Bartkienė E. Microbial and antimicrobial resistance profiles of microbiota in common carps (*Cyprinus carpio*) from aquacultured and wild fish populations. *Animals*. 2021;11(4):929.
30. Merrifield DL, Balcázar JL, Daniels C, Zhou Z, Carnevali O, Sun YZ, Hoseinifar SH, Ringø E. Indigenous lactic acid bacteria in fish and crustaceans. *Aquaculture nutrition: gut health, probiotics and prebiotics*. 2014:128-68.
31. Keysami M. A., Zoughi Shalmani A, Zahmatkesh Kumleh A, Karimi A. Isolation and identification of bacterial flora of the digestive tract of silver carp broodstock. *Quarterly Journal of Animal Ecology*, 2022; 14(4): 173-180. (in Persian).
32. Ghosh K, Banerjee S, Moon UM, Khan HA, Dutta D. Evaluation of gut associated extracellular enzyme-producing and pathogen inhibitory microbial community as potential probiotics in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *International Journal of Aquaculture*. 2017;7.
33. Talukdar S, Ringø E, Ghosh K. Extracellular tannase-producing bacteria detected in the digestive tracts of freshwater fishes (Actinopterygii: Cyprinidae and Cichlidae). *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*. 2016; 46(3):201-210. DOI:10.3750/AIP2016.46.3.04.
34. Keysami MA, Zoughi Shalmani A, Zahmatkesh Kumleh A, Karimi A. Screening of bacterial flora isolated from the gastrointestinal tract of silver carp broodstocks (*Hypophthalmichthys molitrix*) as probiotics. *Journal of Animal Environment*. 2022; 14(1): 285-292. (in Persian).
35. Ghafarnejad Moghadam F, Shondi M, Haddadi A, Amozgar MA. The Effect of Altitude on the Diversity and Abundance of Bacterial Populations in Soil Samples from Qale Kazem Khan Mountain, Lake Urmia." *Quarterly Journal of Microbial world*. 281-271 : (53) 4 ;2023 <https://doi.org/10.30495/jmw.2022.1966410.2033>. (in Persian).

36. Punom NJ. 16S rRNA sequence based identification of pathogenic gut microbiota of Rohu, (*Labeo rohita*, Hamilton-Buchanan 1822) and Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) repository. Dhaka University Journal of Biological Sciences. 2017; 25(2):169-184. DOI:10.3329/dujbs.v25i2.46340
37. Rimoldi S, Gini E, Koch JF, Iannini F, Brambilla F, Terova G. Effects of hydrolyzed fish protein and autolyzed yeast as substitutes of fishmeal in the gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diet, on fish intestinal microbiome. BMC Veterinary Research. 2020;16(1):118.
38. Pękala-Safińska A. Contemporary threats of bacterial infections in freshwater fish. Journal of veterinary research. 2018; 62(3): 261–267.
39. Banerjee G, Nandi A, Ray AK. Assessment of hemolytic activity, enzyme production and bacteriocin characterization of *Bacillus subtilis* LR1 isolated from the gastrointestinal tract of fish. Archives of microbiology. 2017 ;199(1):115-24.
40. Luo C, Yi C, Ni L, Guo L. Characterization of dominant and cellulolytic bacterial communities along the gut of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during cyanobacterial blooms. Chinese Journal of Oceanology and Limnology. 2017; 35: 624–633.