



Original Research Paper

Comparison of probiotic properties of bacteria isolated from intestinal *Rutilus kutum* of Caspian Sea with imported probiotics

Omid Khanmohammadi Otaghsara ¹, Shahla Jamili ^{2*}, Majid Alipour ³, Shayan Ghobadi ⁴

¹ Department of Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² National Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran

³ Department of Cellular and Molecular Biology, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran

⁴ Department of Fisheries, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran

Key Words

Rutilus kutum
Lactobacillus
Escherichia coli
Pseudomonas aeruginosa
 Sensitivity test
Aeromonas hydrophila

Abstract

Introduction: Lactic acid bacteria play an important role in animal health. The aim of this study was to investigate the probiotic properties of bacteria isolated from *Rutilus kutum* intestine and compare it with imported probiotics.

Materials & Methods: In this study, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* were isolated from *Rutilus kutum* intestines by phenotypic and PCR methods and identified with imported probiotics (*Lactobacillus bulgaris* prepared by Kristin Hansen, Denmark), compared to Denmark. They were paid.

Results: First, fermentation of sugars, in which *Lactobacillus plantarum* has the highest number of sugars, including sugars; Fermented arabinose, sucrose, raffinose, cellobiose, ribose, glucose, fructose, galactose, trehalose, lactose, mannose, mannitol, melobiose and melocytose Fermented glucose, fructose, trehalose, lactose and melocytosis. Survival of probiotics under acidic conditions has been as follows; All *Lactobacillus* except *Lactobacillus plantarum* had a resistance percentage (43%) at pH=3-4. However, other isolated lactobacilli and imported probiotics had a good resistance percentage (65% -75%) of growth under acidic conditions. Compared with bile salt test, *Lactobacillus brevis* did not grow in 0.6% of bile salts, but other imported *Lactobacillus* and probiotics did not grow well in different concentrations (0.4%, 0.5% and 0.6%). They had bile salts. Compared to the susceptibility test, imported probiotics were sensitive to all antibiotics, but isolated lactobacilli were resistant to the vancomycin antibiotic. The inhibitory effect of isolated and imported lactic acid bacteria on *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* was also investigated by disk diffusion method. In order to reduce the error, each test was repeated at least three times. The maximum mean diameter of growth inhibition zone for *Lactobacillus acidophilus* on *Escherichia coli* and *Sodomonas aeruginosa* was 12 and 14 mm, respectively. Has not created growth. The diameter of the growth probe of imported probiotics on *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* was 9 and 5 mm, respectively. In the next comparison, lactobacilli isolated from the intestines of *Rutilus kutum* and imported probiotics were added to the diet of salmon infected with the bacterium *Aeromonas hydrophila* (injection into the peritoneum of fish), which caused a significant reduction in 21 days. We have witnessed the death of salmon.

Conclusion: *Lactobacillus* isolated from whitefish intestines have more probiotic potential than imported bacteria (*Lactobacillus bulgaris*) and is a very suitable alternative for use in aquaculture and industry.

* Corresponding Author's email: shahlaJamili45@yahoo.com

Received: 20 February 2023; Reviewed: 23 April 2023; Revised: 25 May 2023; Accepted: 26 June 2023

(DOI):10.70102/AEJ.2025.16.4.16

مقاله پژوهشی

مقایسه خواص پروبیوتیکی باکتری های جدا شده از روده ماهی سفید دریای خزر با پروبیوتیک وارداتی

امید خان محمدی اطاقسرا^۱، شهلا جمیلی^{۲*}، مجید علیپور^۳، شایان قبادی^۴

^۱ گروه زیست شناسی دریا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۲ موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

^۳ گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

^۴ گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

چکیده

کلمات کلیدی

مقدمه: باکتری های اسیدلاکتیک نقش مهمی در سلامت جانوران برعهده دارند. هدف از مطالعه حاضر بررسی خواص پروبیوتیکی باکتری های جدا شده از روده ماهی سفید و مقایسه آن با پروبیوتیک وارداتی بوده است.

مواد و روش ها: در این تحقیق لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس برویس توسط روش های فنوتیپی و PCR از روده ماهی سفید جداسازی و شناسایی شده بودند با پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس تهیه شده از شرکت کریستین هنسن دانمارک)، به مقایسه خواص پروبیوتیکی آن ها پرداخته شد.

نتایج: ابتدا تخمیر قندها، که لاکتوباسیلوس پلانتاروم بیش ترین تعداد قند از جمله قندهای؛ آرابینوز، سوکروز، رافینوز، سلوبیوز، ریبوز، گلوکز، فروکتوز، گالاکتوز، تrehالوز، لاکتوز، مانوز، مانیتول، ملوبیوز و ملوسیتوز را تخمیر کرده است اما پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) کم ترین تعداد قندها مانند: آرابینوز، اینوزیتول، ریبوز، گلوکز، فروکتوز، تrehالوز، لاکتوز و ملوسیتوز را تخمیر کرده است. بقای پروبیوتیک ها در شرایط اسیدی بدین صورت بوده است که؛ تمام لاکتوباسیلوس ها، به جز لاکتوباسیلوس پلانتاروم که درصد مقاومت (۴۳٪) را در pH=۳-۴ داشته است. اما سایر لاکتوباسیلوس های جدا شده و پروبیوتیک وارداتی درصد مقاومت مناسبی (۶۵-۷۵٪) از رشد را در شرایط اسیدی داشته اند. در مقایسه تست نمک های صفراوی، لاکتوباسیلوس برویس در ۰/۶ درصد نمک های صفراوی رشدی نداشت ولی سایر لاکتوباسیلوس ها و پروبیوتیک وارداتی رشد مناسبی در غلظت های مختلف (۰/۴٪، ۰/۵٪ و ۰/۶٪) نمک های صفراوی داشته اند. در مقایسه بررسی سنجش حساسیت، پروبیوتیک وارداتی نسبت به همه آنتی بیوتیک ها حساس بوده است ولی لاکتوباسیلوس های جدا شده به آنتی بیوتیک ونکومايسين مقاوم بوده اند. هم چنین اثر مهار کنندگی باکتری های اسیدلاکتیک جدا شده و وارداتی بر روی باکتری های اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا با روش انتشار در دیسک مورد بررسی قرار گرفت. به منظور کاهش خطا، هر آزمون حداقل سه بار تکرار گردید که بیش ترین میانگین قطر هاله عدم رشد مربوط به گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر روی اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۱۲ و ۱۴ میلی متر بوده است. اما لاکتوباسیلوس برویس روی اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا هاله عدم رشدی ایجاد نکرده است. قطر هاله عدم رشد پروبیوتیک وارداتی بر روی اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۹ و ۵ میلی متر بوده است. در مقایسه بعدی که لاکتوباسیلوس های جدا شده از روده ماهی سفید و پروبیوتیک وارداتی به جیره غذایی ماهی قزل آلا که توسط باکتری آئروموناس هیدروفیلا آلوده شده بودند (تزریق به صفاق ماهی)، اضافه گردید که در مدت زمان ۲۱ روز سبب کاهش معنی دار و شاهد مرگ ماهی قزل آلا بوده ایم.

بحث و نتیجه گیری: لاکتوباسیلوس های جدا شده از روده ماهی سفید نسبت به باکتری وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) دارای قابلیت پروبیوتیکی بیش تری می باشد و یک جایگزین بسیار مناسب برای استفاده در آئزی پروری و صنعت می باشد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: shahlahajmili45@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱ اسفند ۱۴۰۱؛ تاریخ داوری: ۳ اردیبهشت ۱۴۰۲؛ تاریخ اصلاح: ۴ خرداد ۱۴۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۵ تیر ۱۴۰۲

(DOI): 10.70102/AEJ.2025.16.4.16

مقدمه

آبزی پروری اهمیت به سزایی دارند (۲۱). پروبیوتیک‌ها بر روی دستگاه گوارش ماهی، دارای اثرات تغذیه‌ای و متابولیکی می‌باشد که باعث افزایش رشد و بهبود اشتها، افزایش هضم غذا (با کمک آنزیم)، مهار میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، تحریک سیستم ایمنی بدن، افزایش مقاومت در برابر استرس و بهبود سلامت عمومی می‌شود (۳۵). ماهی سفید یا جواهر دریای خزر با نام علمی *Rutilus frisii* می‌باشد. پراکنش ماهی سفید در دریای خزر مربوط به مناطق جنوبی و جنوب غربی این دریا بوده و از رودخانه اترک واقع در منطقه قفقاز (ساحل غربی خزر میانی) تا سواحل جنوب ترکمنستان می‌باشد. ماهی سفید از نظر رژیم غذایی در گروه ماهیان همه‌چیزخوار قرار دارد و به عنوان یک ماهی اقتصادی ارزشمند توسط صیادان صید می‌گردد (۶).

مواد و روش‌ها

از ماهی سفید صید شده از سواحل دریای خزر (بابلسر، فریدونکنار، محمودآباد، نور، سرخود و چالوس) توسط صیادان به تعداد ۱۰۰ عدد براساس جدول مورگان و فرمول کوکران به تعداد ۱۰۰ عدد ماهی به عنوان نمونه آماری انتخاب گردید. نمونه برداری در شرایط استریل که بخشی از ابتدای روده میانی ماهی به میزان ۱ گرم برداشته و وارد محیط کشت MRS براث کرده و در جار بی‌هوازی با شرایط میکروانروفلیک به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شد (۲۹). بعد از آن باکتری‌های باسیل گرم مثبت، کاتالاز و اکسیداز منفی جدا گردید (۱). برای شناسایی گونه‌های مختلف لاکتوباسیلوس، از PCR (پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر قطعه 16S RNA مورد استفاده قرار گرفت) استفاده گردید. سپس برای مقایسه خواص پروبیوتیکی با پروبیوتیک وارداتی تست‌های زیر انجام گرفت.

مقایسه آزمون تخمیر قندها: قندهای آرابینوز، سوکروز، رافینوز، سلوبیوز، ریبوز، گلوکز، فروکتوز، گالاکتوز، تریهالوز، لاکتوز، مانوز، مانیتول، ملوبیوز، ملوسیتوز، رامنوز و اینوزیتول در محیط کشت فتل ردبیس براث به درون جار بی‌هوازی قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه، پاسخ تخمیر قندها و تغییر رنگ از قرمز به زرد، مورد بررسی قرار گرفت (برای دقیق بودن نتایج مراحل آزمایش سه بار تکرار گردید) (۳۷).

مقایسه بررسی مقاومت به اسید: از ایزوله‌های باکتری‌های جدا شده از روده ماهی سفید و پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) را در محیط MRS براث تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد در جار بی‌هوازی انکوبه‌گذاری کرده و به عنوان پیش کشت در نظر گرفته شد. در مرحله بعد به ازای هر ایزوله ۲ ارلن انتخاب کرده و در هر کدام ۶ میلی لیتر از ایزوله

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که با استقرار در محیط روده، مانع فعالیت میکروارگانیسم‌های غیرمفید و پاتوژن می‌شوند. باکتری‌های اسیدلاکتیک مهم ترین میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی هستند که نقش مهمی را در سلامت روده ایفا می‌کند (۲۳). پروبیوتیک‌ها با استقرار در محیط روده می‌توانند تعادل میکروبی را حفظ کنند. علاوه بر این پروبیوتیک‌ها با سنتز برخی مواد ضروری، نقش مهمی در حفظ سلامتی فرد مصرف‌کننده ایفا می‌کنند و مصرف مداوم‌شان باعث بهبود عملکرد روده می‌شود (۲۰). پروبیوتیک‌ها دارای مزایای متعددی می‌باشند، از جمله: کاهش عدم تحمل لاکتوز، کاهش سطح کلسترول سرم خون، فعالیت ضدسرطانی، تحریک سیستم ایمنی و هم چنین با تولید مواد باز دارنده و ضد میکروبی در رقابت با میکروارگانیسم‌های مضر و اشغال سایت‌های ویژه در روده، اثرات خود را اعمال می‌کنند (۵). ترکیباتی که ویژگی آنتی‌باکتریال دارند سبب می‌شوند که رشد باکتری محدود یا این که به طور کامل باکتری را از بین می‌برند. بنابراین روش‌های جدید برای مبارزه با باکتری‌های پاتوژن مورد نیاز است تا توانایی محدود کردن رشد باکتری‌های بیماری‌زا را داشته باشد. به همین دلیل شرکت‌های داروسازی و پژوهشگران به دنبال یافتن داروهای جدید ضد باکتری هستند (۷). از آن جایی که پروبیوتیک‌ها به جذب مواد مغذی کمک می‌کنند، تأثیرات مثبتی بر سرعت رشد میزبان دارند. (۳۱). سورتاز A یکی از پروتئین‌هایی است که در باکتری‌های پروبیوتیک وجود دارد که با قابلیت تجمع و سطح سلول آگریز، توانایی بیش تری برای چسبیدن به اپیتلیوم روده را فراهم می‌کند (۳۲). باکتری‌های پروبیوتیک به طور قابل توجهی باعث ایجاد تولید متابولیت از میکروبیوتاهای روده می‌گردد، متابولیت‌هایی از جمله اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه فرار (VSCFs)، که نقش حیاتی در حفظ سلامت روده ماهی دارند (۱۲). میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک اثرات مفیدی در هضم مواد مغذی غذایی در روده آبزیان دارند و باکتری‌های اسیدلاکتیک به عنوان تولید انرژی در روده جانوران آبزی ایفای نقش می‌کنند (۲۸). پروبیوتیک‌ها، غلظت هورمون استرس (کورتیزول) را کاهش می‌دهند و باعث فعال شدن و بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز) برای افزایش تحمل استرس در موجودات آبزی می‌شود (۱۹). علاوه بر این، پروبیوتیک‌ها به عنوان عوامل عملکردی جدیدی در آبزی پروری در نظر گرفته می‌شوند که پیامدهای بالقوه‌ای در روده دارند (مانند کاهش بیماری‌ها، استرس، تقویت ایمنی، تعدیل میکروبیوتای روده، کمک به تغذیه، بهبود کیفیت آب و غیره). علاوه بر این، پروبیوتیک‌ها با افزایش ارزش تغذیه در رشد و بهبود میزان تخم‌ریزی در سیستم

شده از روده ماهی سفید و پروبیوتیک وارداتی به بررسی میزان مرگ و میر در ماهیان بیمار تغذیه شده با پروبیوتیک و شاهد پرداخته شد. در این مطالعه، تعداد ۱۲۰ عدد بچه ماهی قزل آلا با میانگین وزنی $3 \pm 35-30$ گرم در یک طرح کاملاً تصادفی به ۳ تیمار آزمایشی تیمار ۱ (گروه شاهد) ۲، ۳، ۴ و ۵ هر کدام با ۳ تکرار (تعداد ۸ قطعه ماهی در هر تکرار) انجام گردید. عوامل مختلف از جمله میانگین درجه حرارت روزانه در ساعات مشخص (۷، ۱۳، ۱۹) اکسیژن و pH به صورت هفتگی اندازه گیری و ثبت می گردید. آب مورد استفاده برای پرورش بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان از آب چاه تأمین می گردید (۳۶). باکتری آئروموناس هیدروفیلا طبق روش روشد و میونج، $10^4 \times 5/4$ (تعداد کل فلور باکتریایی بر میلی لیتر) تعیین و به میزان ۰/۱ میلی لیتر به شکل داخل صفاقی به نمونه ماهی تلقیح گردید و برای دقیق بودن سه بار تکرار گردید (۱۸). از ۵ تانک در حدود ۲۱ روز این آزمایش انجام پذیرفت و برای دقیق بودن سه بار تکرار گردید. تانک شماره ۱: نمونه شاهد بدون تزریق و تغذیه غذای ماهی (اکسترو). تانک شماره ۲: تزریق آئروموناس هیدروفیلا و تغذیه غذای ماهی (اکسترو) با لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس. تانک شماره ۳: تزریق آئروموناس هیدروفیلا و تغذیه غذای ماهی (اکسترو) با لاکتوباسیلوس پلانتروم. تانک شماره ۴: تزریق آئروموناس هیدروفیلا و تغذیه غذای ماهی (اکسترو) با لاکتوباسیلوس برویس. تانک شماره ۵: تزریق آئروموناس هیدروفیلا و تغذیه غذای ماهی (اکسترو) با پروبیوتیک وارداتی.

روش های آماری: برای بررسی سطوح معنی داری داده ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA (One way) به همراه تست Duncan در سطح $P < 0.05$ استفاده شد. برای بررسی نرمال بودن داده ها از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف برای بررسی همگنی از آزمون Leven استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار Spss 20 استفاده شد.

نتایج

نتایج تست های تخمیر کربوهیدرات ها: در تست تخمیر قند، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس قادر به تخمیر قند آرابینوز، اینوزیتول، سوکروز، رافینوز، سلوبیوز، گلوکز، فروکتوز، گالاکتوز، تراهالوز، لاکتوز، مانوز، ملوسیتوز و ملوبیوز می باشد ولی سایر قندها را تخمیر نمی کند. لاکتوباسیلوس پلانتروم قندهای آرابینوز، سوکروز، رافینوز، سلوبیوز، ریبوز، گلوکز، فروکتوز، گالاکتوز، تراهالوز، لاکتوز، مانوز، مانیتول، ملوبیوز و ملوسیتوز را تخمیر می کند. ولی قادر به تخمیر قند اینوزیتول و رامنوز نمی باشد. هم چنین لاکتوباسیلوس برویس قادر

باکتری (نیم مک فارلند) را درون هر ارلن تلقیح کرده محیط کشت MRS براث ریخته و بعد با اضافه کردن اسید کلریدریک به هر ارلن pH را بین ۲-۳ رسانده و انکوبه می نماییم و بعد از مدت ۲۴ ساعت OD ارلن به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه گیری شد (اساس کار کدورت سنجی می باشد) گردید و بر حسب درصد بقا گزارش گردید (۱۶).

مقایسه تست تحمل املاح صفراوی: ابتدا باکتری خالص شده و پروبیوتیک وارداتی در محیط کشت MRS براث آماده کرده سپس صفرا را با رقت ۰/۴، ۰/۵ و ۰/۶ درصد آماده می کنیم و به مدت دو ساعت در معرض صفرا قرار داده سپس بر روی MRS آگارکشت داده و در انکوباتور در جار بی هوازی به مدت ۲۴ ساعت قرار می دهیم و از نظر حضور و عدم حضور رشد مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۵).

مقایسه تاثیر آنتی بیوتیک ها بر روی باکتری های جدا شده از روده ماهی سفید و پروبیوتیک وارداتی: آمپی سیلین، تتراسایکلین، آزیترومایسین، استرپتومایسین و ونکومایسین که تاثیرشان را بر روی باکتری های جدا شده از روده ماهی سفید و پروبیوتیک وارداتی انجام گرفت که براساس نیم مک فارلند سنجیده گردید (برای دقیق بودن نتایج، مراحل آزمایش سه بار تکرار گردید) (۱۱).

مقایسه فعالیت ضد باکتریایی بر علیه باکتری های پاتوژن: برای بررسی فعالیت آنتاگونیستی، باکتری های اسیدلاکتیک جدا شده و پروبیوتیک وارداتی از طریق انتشار دیسک بر روی باکتری های اشرشیا کلی (ATCC: ۲۵۹۲۲) و سودوموناس آئروژینوزا (ATCC: ۲۷۸۵۳) تست شدند. سویه های باکتری در محیط کشت مولر هینتون آگار پخش گردید سپس دیسک باکتری (براساس ۰/۵ مک فارلند با دوز ۴۰ میکرولیتر) بر روی آن قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در شرایط هوازی، قطره های نواحی عدم رشد را اندازه گیری کرده و با واحد میلی متر ثبت گردید (۱۰).

مقایسه بررسی بر روی باکتری آئروموناس هیدروفیلا: برای بررسی و مقایسه بیش تر باکتری های جدا شده از روده ماهی سفید و پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس)، اثر آن ها را بر روی سلامت ماهی در مقابل باکتری آئروموناس هیدروفیلا، عامل بیماری سپتی سمی همورائیک مورد بررسی قرار گرفت. باکتری آئروموناس هیدروفیلا باکتری گرم منفی، متحرک و فرصت طلبی است که عامل سپتی سمی در ماهیان آب های شیرین و شور می باشد. این باکتری باعث خونریزی در زیر شکم، اطراف مخرج، باله ها، اطراف دهان و هم چنین زخم هایی در پوست و باله دم می باشد (۲). بدین صورت که باکتری آئروموناس هیدروفیلا (RTCC: ۱۰۳۲) به صفاق ماهی قزل آلا تزریق گردید و با تغذیه ماهی توسط باکتری های جدا

OD ارلن حاوی لاکتوباسیلوس ها به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه گیری شد و براساس تراکم باکتری و درصد مقاومت مناسبی، در مدت ۲۴ ساعت گزارش گردید که در این تست میزان ۶۰-۱۰ درصد تراکم باکتری و مقاومت مناسبی مربوط به لاکتوباسیلوس پلانتاروم می باشد و سایر لاکتوباسیلوس ها ۸۰-۶۰ درصد تراکم و مقاومت مناسبی با پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) داشته اند (جدول ۳).

جدول ۳: نتایج مقایسه تست تحمل املاح صفراوی

گونه باکتری	تست تحمل نمک صفراوی (%)		
	۰.۴%	۰.۵%	۰.۶%
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	+	+	+
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	+	+	+
لاکتوباسیلوس برویس	+	+	-
لاکتوباسیلوس بولگاریس	+	+	+

+: تحمل، -: عدم تحمل

تعیین مقاومت به درصدهای نمک های صفراوی براساس دو ساعت می باشد که در درصدهای مختلف بررسی گردید و فقط لاکتوباسیلوس برویس در ۰/۶ درصد املاح صفراوی قادر به رشد نبوده است ولی بقیه باکتری ها و پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) قادر به رشد در غلظت های مختلف (۰/۴، ۰/۵ و ۰/۶ درصد) املاح صفراوی بوده اند (جدول ۴). در بررسی انجام شده برای آنتی بیوتیک آمپی سیلین بیش ترین هاله عدم رشد مربوط به پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) و کم ترین هاله عدم رشد مربوط به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بوده است. آنتی بیوتیک تتراسایکلین نیز، بیش ترین هاله عدم رشد را بر روی لاکتوباسیلوس بولگاریس و کم ترین هاله عدم رشد مربوط به لاکتوباسیلوس برویس داشته است. در آنتی بیوتیک آزیترومایسین نیز بیش ترین هاله عدم رشد مربوط به لاکتوباسیلوس پلانتاروم و کم ترین هاله عدم رشد مربوط به لاکتوباسیلوس برویس می باشد. در آنتی بیوتیک استرپتومایسین نیز بیش ترین هاله عدم رشد مربوط به لاکتوباسیلوس پلانتاروم و کم ترین هاله عدم رشد مربوط به لاکتوباسیلوس برویس می باشد و در نهایت آنتی بیوتیک ونکومایسین نیز بیش ترین هاله عدم رشد مربوط به لاکتوباسیلوس بولگاریس و تأثیری بر روی لاکتوباسیلوس های جدا شده از روده ماهی سفید نداشته است هم چنین بررسی آماری نشان می دهد با توجه به مقدار به دست آمده $\text{sig} = 0/00$ از هریک از متغیرها چون کم تر از ۰/۰۵ می باشد بنابراین تفاوت معنی داری بین آن ها وجود دارد. هم چنین نتایج حاصل از آزمون دانکن نشان می دهد که بیش ترین میانگین و همبستگی مربوط به باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم با دیسک آنتی بیوتیک آزیترومایسین می باشد (جدول ۵).

به تخمیر آرابینوز، سوکروز، رافینوز، گلوکز، گالاکتوز، لاکتوز و می باشد ولی قادر به تخمیر اینوزیتول، رامنوز، سلوبیوز، فركتوز، ترهالوز، مانوز، مانیتول و ملوسیتوز نبوده است. پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) قادر به تخمیر قند آرابینوز، اینوزیتول، ریبوز، گلوکز، فروکتوز، ترهالوز، لاکتوز و ملوسیتوز می باشد ولی قادر به تخمیر قند سوکروز، رافینوز، رامنوز، سلوبیوز، گالاکتوز، مانوز، مانیتول و ملوبیوز نمی باشد. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می دهد که از میان لاکتوباسیلوس ها، لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) به ترتیب بیش ترین و کم ترین تخمیر قندها را به خود اختصاص داده اند (جداول ۱ و ۲).

جدول ۱: نتایج تست تخمیر قندها توسط لاکتوباسیلوس های جدا شده از روده ماهی سفید با پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس)

تست	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	لاکتوباسیلوس پلانتاروم	لاکتوباسیلوس برویس	لاکتوباسیلوس بولگاریس
آرابینوز	+	+	+	+
اینوزیتول	+	-	-	+
ساکارز	+	+	+	-
رافینوز	+	+	+	-
رامنوز	-	-	-	-
سلوبیوز	+	+	-	-
ریبوز	-	+	+	+
گلوکز	+	+	+	+
فركتوز	+	+	-	+
گالاکتوز	+	+	+	-
ترهالوز	+	+	-	+
لاکتوز	+	+	+	+
مانوز	+	+	-	-
مانیتول	-	+	-	-
ملیسیتوز	+	+	-	+
ملیبیوز	+	+	+	-

+: تخمیر شده، -: عدم تخمیر

جدول ۲: نتایج مقایسه بررسی مقاومت به اسید

درصد جدایه های مقاوم به اسید، لاکتوباسیل های جدا شده از روده ماهی سفید و پروبیوتیک وارداتی در pH= ۳-۴				
	۱۰<	۶۰-۱۰	۸۰-۶۰	۸۰>
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	-	-	۷۰	-
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	-	۴۳	-	-
لاکتوباسیلوس برویس	-	-	۶۵	-
لاکتوباسیلوس بولگاریس	-	-	۷۵	-

جدول ۴: مقایسه نتایج آنتی بیوگرام، اثرات آنتی بیوتیک ها بر باکتری های لاکتوباسیل جدا شده از روده ماهی سفید دریای خزر و باکتری وارداتی بر اساس قطر منطقه بازدارندگی (میلی متر)

گونه	آمی سیلین	تتراسایکلین	آزیترومایسین	آزیترومایسین	ونکومایسین
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۱۵	۱۷	۲۶	۱۴	-
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	۲۴	۲۳	۳۳	۱۵	-
لاکتوباسیلوس برویس	۲۳	۱۶	۳۰	۱۰	-
لاکتوباسیلوس بولگاریس	۲۸	۳۰	۳۰	۱۴	۲۴

قطر هاله = ۸ میلی متر

جدول ۵: مقایسه میانگین نتایج سنجش حساسیت (فعالیت مهار) لاکتوباسیل های جدا شده از روده ماهی سفید و پروبیوتیک وارداتی بر سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیا کلی در دوز ۴۰

لاکتوباسیلوس های جدا شده	اشرشیا کلی	سودوموناس آئروژینوزا
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۱۲	۱۴
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	۱۱	۱۱
لاکتوباسیلوس برویس	۰	۰
لاکتوباسیلوس بولگاریس	۹	۵

* فعالیت آنتی میکروبی (به عنوان قطر منطقه مهار در میلی متر بیان شده با روش انتشار آگار). از بین باکتری ها لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بیشترین اثر را بر روی اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا داشته است.

آزمون دانکن نشان می دهد که بیشترین میانگین مربوط به باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس می باشد.

نتایج مقایسه بررسی بر روی باکتری آئروموناس هیدروفیلا:

نتایج تاثیر باکتری های جدا شده از روده ماهی سفید دریای خزر و پروبیوتیک وارداتی بر روی ماهی قزل آلا تزریق شده با آئروموناس هیدروفیلا که بعد از مدت ۱۰ روز مرگ و میر ماهی در تانک آغاز گردید. با توجه به نتایج بالا میزان ماندگاری ماهی ایستگاه ها با نمونه شاهد و هم چنین بین نمونه ها رابطه معنی داری وجود ندارد ($p > 0.05$) و همبستگی قوی بین داده ها وجود ندارد.

لاکتوباسیلوس برویس هیچ اثر مهار بر روی اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا نشان ندادند. ولی سایر باکتری های جدا شده نسبت به پروبیوتیک وارداتی اثر بیشتری بر روی اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا داشته اند. با توجه به نتایج، تاثیر لاکتوباسیلوس های جدا شده از روده ماهی سفید و پروبیوتیک های وارداتی بر روی اشرشیا کلی که نتایج آماری نشان می دهد با توجه به مقدار به دست آمده $\text{sig} = 0.000$ هر یک از متغیرها چون کم تر از ۰/۰۵ می باشد بنابراین تفاوت معنی داری بین آن ها وجود دارد. هم چنین نتایج حاصل از

جدول ۶: میانگین تاثیر باکتری های جدا شده از روده ماهی سفید دریای خزر و پروبیوتیک وارداتی بر روی ماهی قزل آلا تزریق شده با آئروموناس هیدروفیلا در مدت زمان ۲۰ روز

آکواریم شماره ۱	آکواریم شماره ۲	آکواریم شماره ۳	آکواریم شماره ۴	آکواریم شماره ۵
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	لاکتوباسیلوس پلانتاروم	لاکتوباسیلوس برویس	لاکتوباسیلوس بولگاریس	(شاهد)
۹۵٪	۲٪	۰	۱٪	۱٪

ماهی ها در مدت ۱۰ روز از نظر نشانه های بی حالی، کاهش اشتها، بیرون زدگی چشم و تیرگی پوست ارزیابی و تلفات روزانه ثبت شدند.

بحث

در این تحقیق بعد از جداسازی و شناسایی لاکتوباسیلوس ها از روده ماهی سفید، خواص پروبیوتیکی و مقایسه آن با پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) مورد بررسی قرار گرفت. قندها

بهترین منبع کربن و انرژی برای باکتری های اسیدلاکتیک هستند. در تست تخمیر قندها، لاکتوباسیلوس بولگاریس و لاکتوباسیلوس برویس کمترین میزان قندها را نسبت به بقیه باکتری تخمیر کرده اند. که با نتایج Farahbakhsh و همکاران (۸) و هم چنین با نتایج

Mohammadian و همکاران (۲۶) مطابقت دارد. تحقیق حاضر هم چنین با نتایج Mahmoudi و همکاران، در تخمیر قندها توسط لاکتوباسیلوس ها (۳) هم خوانی دارد. در مطالعه حاضر گونه های لاکتوباسیلوس از لحاظ تحمل در برابر شرایط اسیدی مورد بررسی قرار گرفتند که درصد بقاء براساس بیش ترین میزان کدورت مربوط به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بوده است که با نتایج Mohammadian و همکاران، که در $pH = 4$ که رشد لاکتوباسیلوس ها را شاهد بودند (۲۶)، مطابقت دارد. Son و همکاران، به بررسی درصد زنده ماندن سویه های لاکتوباسیلوس پرداختند که لاکتوباسیلوس ها در $pH = 2/5$ مدت زمان سه ساعت را تحمل نمودند (۳۰). Mathialagan و همکاران، گونه های لاکتوباسیلوس را از دستگاه گوارش ماهی های آب شیرین، (*Labeo calbasu*) برای ارزیابی پتانسیل پروبیوتیکی آن ها جدا نمودند. این سویه ها قادر به زنده ماندن در شرایط اسیدی ($pH = 7-1$) بعد از ۳ ساعت بوده اند (۲۷). Mortezaei و همکاران، مقاومت در شرایط اسیدی باکتری های اسیدلاکتیک جدا شده از روده ماهی قزل آلائی رنگین کمان پرداختند که در $pH = 3-7/5$ مقاوم بودند (۳) که با نتایج حاضر هم خوانی دارد. در آزمایش حاضر میزان بقای باکتری های جدا شده و پروبیوتیک وارداتی در $pH = 3-4$ در مدت زمان یاد شده (۲۴ ساعت) بسیار مناسب می باشد که نشان دهنده توانایی مقاومت لاکتوباسیلوس های جدا شده از روده ماهی در مقابل اسید معده می باشد. در تحقیق حاضر لاکتوباسیلوس های جدا شده از روده ماهی سفید و پروبیوتیک وارداتی با رقت های مختلف صفرا به مدت ۲ ساعت در معرض قرار گرفتند. رشد و عدم رشد، مورد ارزیابی قرار گرفت. لاکتوباسیلوس برویس در ۰/۶ درصد نمک های صفراوی رشدی نداشت ولی سایر لاکتوباسیلوس ها و پروبیوتیک وارداتی رشد مناسبی در غلظت های مختلف (۰/۴٪، ۰/۵٪ و ۰/۶٪) داشته اند. Bukhari و همکاران، نشان دادند که لاکتوباسیلوس ها قادر به رشد در املاح صفراوی می باشند که در این آزمایش به غیر از لاکتوباسیلوس برویس که در غلظت ۰/۶٪ رشد نداشته است ولی در غلظت های دیگر رشد داشته است (۱۵). لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم و پروبیوتیک وارداتی نیز در تمام غلظت ها از رشد مناسبی برخوردار بودند. Mortezaei و همکاران، به بررسی تست مقاومت به املاح صفراوی نسبت به باکتری های اسیدلاکتیک جدا شده از ماهی قزل آلائی رنگین کمان پرداختند که باکتری های جدا شده قادر به رشد در املاح صفراوی بوده اند (۳). Mathialagan و همکاران، لاکتوباسیلوس ها را از دستگاه گوارش ماهی آب شیرین، (*Labeo calbasu*) برای ارزیابی پتانسیل پروبیوتیکی آن ها جدا نمودند این سویه ها قادر به تحمل نمک صفراوی بعد از ۳ ساعت بوده اند (۲۷) که با نتایج حاضر هم خوانی دارد. تست بعدی بررسی سنجش

حساسیت و یا مقاومت به آنتی بیوتیک های باشد که بین لاکتوباسیلوس های جدا شده از ماهی و پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) انجام گرفت. در نتایج به دست آمده باکتری وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) نسبت به تمام آنتی بیوتیک ها حساسیت نشان داد اما لاکتوباسیلوس های جدا شده از روده ماهی سفید دریای خزر نسبت به آنتی بیوتیک های آزیترومایسین، تتراسایکلین، ونکومایسین، آمپی سیلین و استرپتومایسین هاله عدم رشد را شاهد بوده ایم اما نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین مقاوم بوده اند و این آنتی بیوتیک تأثیری بر روی آن ندارد (براساس کتابچه راهنمای CLSI) که تحقیق حاضر با نتیجه تحقیق Klare و همکاران، در مورد حساسیت و هاله عدم رشد به لاکتوباسیلوس ها مطابقت دارد. هم چنین لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس پلانتاروم به ترتیب با قطر هاله ۱۷ و ۲۳ میلی متر نسبت به آنتی بیوتیک تتراسایکلین حساس بودند و لاکتوباسیلوس پلانتاروم نیز نسبت به ونکومایسین با قطر هاله صفر، مقاومت دارد (۲۲). در تحقیقی که Zahari، انجام داد مقاومت به آنتی بیوتیک ونکومایسین مشاهده گردید (۳۴). Yenizey و همکاران، به بررسی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین پرداختند که این باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین مقاوم بوده اند (۳۸). Mathialagan و همکاران، گونه های لاکتوباسیلوس را از دستگاه گوارش ماهی های آب شیرین (*Labeo calbasu*) جدا نمودند که گونه جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین و آمپی سیلین حساسیت داشته است (۲۷) که با تحقیق حاضر در مورد پروبیوتیک وارداتی مطابقت دارد ولی نسبت به لاکتوباسیل های جدا شده از روده ماهی مطابقت ندارد که از ویژگی های خوب آن ها می باشد. Falah و همکاران، دریافتند که لاکتوباسیلوس های جدا شده از روده ماهی، نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین دارای مقاومت می باشد که بسیار حائز اهمیت است زیرا این آنتی بیوتیک در برابر عفونت های حاد ناشی از پاتوژن های مقاوم به داروهای ترکیبی، عملکرد ویژه ای دارد که با توجه به تحقیق حاضر و مقاومت گونه های جدا شده لاکتوباسیلوس از روده ماهی سفید نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین حائز اهمیت می باشد. برای بررسی فعالیت سنجش حساسیت، فعالیت ضد میکروبی باکتری های اسیدلاکتیک جدا شده از روده ماهی و پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) از طریق انتشار دیسک بر روی باکتری های اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا تست شدند (۹). Zahari، به بررسی باکتری های اسیدلاکتیک (LAB) با توانایی آن ها در مهار باکتری های بیماری زا را به دلیل کاهش میزان pH داشته، پرداخته است که در مطالعه انجام شده بر روی باکتری اشرشیاکلی هاله عدم رشد ۸/۵ میلی متر ثبت گردید (۳۴) در حالی که در مطالعه حاضر هاله عدم رشد بیش تری را شاهد

خواص پروبیوتیکی بهتری نسبت به پروبیوتیک وارداتی می باشد. هم چنین با توجه به سویه های وارداتی باکتری های اسیدلاکتیک، می توان با جداسازی این باکتری های سودمند از جانوران آبی گامی مهم در تولید پروبیوتیک و استفاده در آبی پروری و صنعت لبنی شاهد باشیم.

منابع

1. Esmaily, P., Amirmozafari, N. and Shenavar Masoole, A.R., 2010. Antagonistic Effect of Lactic Acid Bacteria from Persian Sturgeon Gut Against *Aeromonas hydrophila*. New Technologies in Aquaculture Development (Journal of Fisheries). 4(4): 67-70. (In Persian)
2. Banafsheh, P., Soltani, M., Shamsaie Mehrgan, M., Rajabi Islami, H. and Nazemi, M., 2021. Antibacterial activity of sea cucumber (*Holothuria leucospilota*) extracts on *Lactococcus garvieae* and *Aeromonas hydrophila*. Journal of Animal Environment. 13(3): 307-314. (In Persian)
3. Mahmoudi, B., Ebrahimzadeh Mousavi, Z. and, Khodaiyan, F., 2021. Evaluation of growth, sugar and organic acid metabolism and cell viability of probiotic lactic acid bacteria in jujube extract. Journal of food science and technology. 17(107): 81-89. (In Persian)
4. Mortezaei, F., Royan, M., Allaf Navirian, H. and Babakhani, A., 2018. Evaluation of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) intestine against *Streptococcus iniae*. Journal of Aquaculture Sciences. 10(6): 43-54. (In Persian)
5. Hamidi Hesari, M. and Bani Torfi, M., 2018. Probiotics and Therapeutic Applications, Quarterly Journal of Laboratory and Diagnostics. 4: 61-66. (In Persian)
6. Khanipour, A. and Valipour, R., 2010. White fish, the jewel of the Caspian Sea, Publications of the Iranian Fisheries Research and Education Institute. 84 p. (In Persian)
7. Rezaii, F., 2021. The antibacterial effect of iron oxide and graphene oxide nanoparticles and their nanocomposites against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. Journal of Animal Environment. 13(2): 405-412. (In Persian)
8. Farahbakhsh M, Hakimi H, Bahram Abadi R, Zolfaghari M, Doraki N. 2013. Isolation of Probiotic Lactobacilli from Traditional Yogurts Produced in Rural Areas of Rafsanjan and their Antimicrobial Effects. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. 12(9): 733-746. (In Persian)
9. Falah, F., Mortazavi, S.A. and Tabatabaei Yazdi, F., 2019. Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus brevis* strain PML1 Based on the ability to adhesion to the epithelial cells of intestine. Journal of Applied Microbiology in Food Industry. 5(1): 41-53. (In Persian)
10. Abdel-Daim, A., Hassouna, N., Hafez, M., Ashor, M.S.A. and Aboulwafa, M.M., 2013. Antagonistic activity of *Lactobacillus* isolates against *Salmonella typhi* in vitro. BioMedResearch International. 680-605.
11. Ahmady-Asbchin, S., Safari, M., Moradi, H. and Sayadi, V., 2013. Antibacterial effects of methanolic and ethanolic leaf extract of Medlar (*Mespilus germanica*) against bacteria isolated from hospital environment. Arak Medical University Journal. 16(75): 1-13.
12. Asaduzzaman, M., Peieehata, S., Akter, S., Kader, M.A., Ghosh, S.K., Nurul Khan, A. and Abol-Munaf, A.B., 2018. Effects of host gut-derived probiotic bacteria on gut morphology, microbiota composition and volatile short chain fatty acids production of Malaysian Mahseer *Tor tambroides*. Aquaculture Reports. 9: 53-61.
13. Bao, L. and Seung, H.Y., 2018. Probiotic potential of novel *Lactobacillus* strains isolated from salted-fermented shrimp as antagonists for *Vibrio parahaemolyticus*. The

بودیم که نشان دهنده تاثیر بیش تر لاکتوباسیلوس های جدا شده از روده ماهی سفید دریای خزر می باشد. در پژوهش Son و همکاران، دریافتند که لاکتوباسیلوس برویس جدا شده از کیمچی بر علیه اشرشیا کلی و لیستریا مونوسایتوزز و سالمونلا تافی موریوم خاصیت ضد میکروبی دارند (۳۰). Didinen و همکاران، بر روی اثر لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر روی باکتری های لاکتوباسیلوس گراویا در ماهی قزل آلا مطالعه نمودند که دارای اثر مهاری بر روی باکتری های بیماری زا داشته است (۱۷) که با تحقیق حاضر که باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر روی باکتری های بیماری زا (اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا) اثر دارد، مطابقت دارد. Seung و Bao، در مورد لاکتوباسیلوس جدا شده از میگوی تخمیر شده شور و سنجش حساسیت آن بر روی باکتری ویبریومولتیپکوس مطالعه کردند و دریافتند که لاکتوباسیلوس پلانتاروم سنجش حساسیت خوبی بر روی باکتری ویبریو داشته است و مرگ و میر ماهی کم تر از نمونه شاهد بوده است (۱۳). Medina و همکاران، بر روی تاثیر لاکتوباسیلوس های جدا شده از ماهی قزل آلا بر روی باکتری *Yersinia ruckeri*، مطالعه نمودند که نتایج حاصله، از تاثیر باکتری های جدا شده بر روی باکتری پاتوژن می باشد (۲۴) که با تحقیق حاضر در مورد لاکتوباسیلوس های جدا شده بر روی باکتری های پاتوژن هم خوانی دارد. Simón و همکاران، در تحقیقی که انجام دادند دریافتند که رایج ترین گونه های پروبیوتیک مورد استفاده در آبی پروری شامل جنس لاکتوباسیلوس ها می باشد که تاثیر آن بر روی باکتری های گرم منفی (گونه سودوموناس)، مثبت ارزیابی شده است (۳۱)؛ که با تحقیق اخیر در مورد سنجش حساسیت لاکتوباسیل ها بر روی پاتوژن های روده ای مطابقت دارد. تاثیر باکتری های جدا شده از روده ماهی سفید دریای خزر و پروبیوتیک وارداتی (لاکتوباسیلوس بولگاریس) بر روی ماهی قزل آلا تزریق شده با آئروموناس هیدروفیلا که بعد از مدت ۱۰ روز مرگ میر ماهی در تانک آغاز گردید و شاهد مرگ ماهی در تمامی تیمارها بوده ایم. Balcázar و همکاران، بیان کردند که جداسازی باکتری های اسیدلاکتیک از ماهی قزل آلا، تاثیر زیادی بر روی باکتری آئروموناس هیدروفیلا دارد (۱۴). هم چنین Esmaily و همکاران نیز گزارش کردند که باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از ماهی خاویاری دارای خاصیت آنتاگونیسمی بر روی باکتری آئروموناس هیدروفیلا می باشد (۱). Faeed و همکاران، بررسی تاثیر غذایی با پروبیوتیک بر افزایش مقاومت در برابر آئروموناس هیدروفیلا و تغییر جوامع باکتریایی دستگاه گوارش ماهی سوف پرداختند که شاهد مرگ ماهی سوف در تیمارهای تغذیه شده با لاکتوباسیلوس برویس شده اند (۱۸) که با نتایج حاضر هم خوانی دارد. با توجه به نتایج به دست آمده نشان می دهد که باکتری های جدا شده از روده ماهی سفید دارای

- calbasu* (Hamilton, 1822). *Aquaculture Reports*. 11: 59-69.
28. Ringø, E., Hoseinifar, S.H., Ghosh, K., Vandoan, H., Beck, B.R. and Song, S.K., 2018. Lactic acid bacteria in finfish-an update. *Frontiers in Microbiology*. 9: 1818.
 29. Soltani, M., Nikbakht, Gh., Mousavi, H.A.E. and Ahmadzadeh, N., 2008. Epizootic outbreaks of lactococcosis caused by *Lactococcus garvieae* in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*. 28(5): 207-212.
 30. Son, S.H., Jeon, H.L., Yang, S.J., Lee, N.K. and Paik, H.D., 2017. In vitro characterization of *Lactobacillus brevis* KU15006, an isolate from kimchi, reveals anti adhesion activity against food borne pathogens and antidiabetic properties. *Microbial pathogenesis*. 1(112): 135-141.
 31. Simón, R., Docando, F., Nuñez-Ortiz, N., Tafalla, C. and Patricia, D.R., 2021. Mechanisms Used by Probiotics to Confer Pathogen Resistance to Teleost Fish. <https://doi.org/10.3389/fimmu.653025>.
 32. Warapond, W., Komwit, S., Panmile, K. and Amornrat, P., 2021. Evaluation of probiotic characteristics and whole genome analysis of *Pediococcus pentosaceus* MR001 for use as probiotic bacteria in shrimp aquaculture. *Scientific Reports*. 11: 18334. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96780-z>.
 33. Tajabady, E.M., Hejazy, M.A., Ghafary, R. and Jafari, P., 2009. Antagonistic ability of acid and bile tolerance *Lactobacillus* were isolated from dairy products. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 12(2): 17-27.
 34. Zahari, W.I.Y.W., 2015. Antimicrobial activities and antibiotic sensitivity of lactic acid bacteria (LAB) from fermented durian flesh. In 2015 Innovation & Commercialization of Medical Electronic Technology Conference (ICMET). 105-110.
 35. Wuertz, S., Schroeder, A. and Wanka, K.M., 2021. Probiotics in Fish Nutrition-Long-Standing Household Remedy or Native Nutraceuticals? *Water*. 13: 1348. <https://doi.org/10.3390/w13101348>.
 36. Vasudeva, R.Y., Romesh, M., Singh, A. and Chakrabarti, R., 2004. Potentiation of antibody production in Indian major carp *Labeo rohita* by *Achyranthes aspera* as an herbal feed ingradient. *Journal of the Aquaculture*. 238: 67-73.
 37. Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H. and Whitman, W., 2011. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. The Firmicutes, Springer Science & Business Media.
 38. Yenizey, M., Alvaerz, C. and Edith, P.A., 2018. Antibiotic resistance in lactic acid bacteria additional informational at thr chapter 4. *Antibiotic Resistance a Global Treat*.
 14. Balcázar, J., Vendrell, D., Blas, I., Ruiz Zarzuela, I., Muzquiz, J. and Girones, O., 2008. Characterization of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from intestinal microbiota of fish. *Aquaculture*. 278: 188-191.
 15. Bukhari, S.M., Iram, M., Lijie, T., Sunting, M., Mang, H.L., Abbas, G., Baboo, I. and Li, Y., 2017. Coherence and colonization characteristics of recombinant *Lactobacillus* under simulated gastric conditions within chicken GI tract and its impact on chicken growth. *Pak Vet J*. 37(4): 381-386.
 16. Charernjiratragul, W., Bhoopong, P., Kantachote, D., Jomduang, S., Kong Ngoen, R., Nair, G. and Uddhakul, V., 2010. Inhibitory activity of lactic acid bacteria isolated from Thai fermented food against pandemic strains of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Food Safety*. 30(1): 67-82.
 17. Didinen, B.I., Onuk, E.E., Metin, S. and Cayli, O., 2018. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) with inhibitory activity against *Vagococcus salmoninarum* and *Lactococcus garvieae*. *Aquaculture Nutrition*. <https://doi.org/10.1111/anu.12571> Citations: 12.
 18. Faeed, M., Kasra Kermanshahi, R., PourKazemi, M., Darboee, M. and Haghighi, K.S., 2018. Study on effect feedings with probiotics in increasing resistance to *Aeromonas hydrophila* and Changes ingutbacterial communities *Sander lucioperca*. *Biological Journal of Microorganism*. 7(27).
 19. Hasan, K.N., Pal, P.K. and Maitra, S.K., 2020. Temporal relationship between the levels of melatonin and different antioxidants in the liver of a surface feeding carp *Catla catla*. *Biological Rhythm Research*. 51(3): 373-391.
 20. Homayouni, A., Amini, A., Keshtiban, A.K., Mortazavian, A.M., EsAzadeh, K. and Pourmoradian, S., 2014. Resistant starch in food industry: A changing out look for consumer and producer. *Starch-Stärke*. 66 (1-2): 102-114.
 21. Kazi Nurul, H. and Goutam, B., 2020. Recent studies on probiotics as beneficial mediator in aquaculture: a review. Hasan and Banerjee. *The Journal of Basic and Applied Zoology*. 81: 53. <https://doi.org/10.1186/s41936-020-00190-y>.
 22. Klare, I., Konstabel, C., Werner, G., Huys, G., Vankerckhoven, V., Kahlmeter, G., Hildebrandt, B., Müller-Bertling, S. and Witte, G.H., 2007. Antimicrobial susceptibilities of *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Lactococcus human* isolates and cultures intended for probiotic or nutritional use. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 59(5): 900-912.
 23. Maria, L.M., Maaïke, C.D.V., Michiel, W., Douwe, M., Peter, M., Siv, A., Willem, M.d.V., Elaine, E.V. and Michiel, K., 2010. Convergence in probiotic *Lactobacillus* gut-adaptive responses in humans and mice. *The ISME Journal*. 4: 1481-1484.
 24. Medina, M., Sotil, G., Flores, V., Fern, A.C. and Sandoval, N., 2021. In vitro assessment of some probiotic properties and inhibitory activity against *Yersinia ruckeri* of bacteria isolated from rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Reports* 18. <http://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100447>.
 25. Menconi, A., Kallapura, G., Latorre, J.D., Morgan, M.J., Pumford, N.R., Hargis, B.M. and Tellez, G., 2014. Identification and characterization of lactic acid bacteria in a commercial probiotic culture. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*. 33(1): 25-30. doi:10.12938/bmfh.33.25.
 26. Mohammadian, T., Ghorbanpoor, M., Alishahi, M., Tabandeh, M.R. and Gharibi, D., 2014. Isolation and Biochemical Identification of Potentially Probiotic Bacteria from *Barbus grypus* intestine. *Iranian Veterinary Journal*. 10(2): 88-97.
 27. Mathialagan, K., Manickam, R. and Pachappan, P., 2018. Evaluation of probiotic potential of *Bacillus* spp. isolated from the digestive tract of freshwater fish *Labeo*