دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره دوم، شماره اول، بهار ۹۳
http://jair.gonbad.ac.ir

اصلاح زیستی پساب حوضچه‌های پرورش ماهی کپور معمولی (*Cyprinuscarpio*Linnaeus, 1758) با استفاده از باسیلوس‌های پروبیوتیکی برای استفاده در سیستم پرورشی

مهسا نادری سامانی[۱]، حجت‌اله جعفریان[۲*]، حسنا قلی‌پور کنعانی[۳]، محمد هرسیج[۳]، محمد فرهنگی[۳]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
[۲] دانشیار، گروه شیلات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
[۳] استادیار، گروه شیلات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

تاریخ ارسال: ۹۲/۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۲۵

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی اثر پروبیوتیک تجاری حاوی اسپورهای ۵ گونه از باکتری‌های جنس باسیلوس بر فرآیند اصلاح زیستی پساب سیستم پرورشی بچه‌ماهیان کپور صورت گرفت. این مطالعه با دو تیمار شامل تیمار پروبیوتیکی (T1) مخلوط باسیلوس‌ها در غلظت ۱×۱۰^{۸} باکتری که به ازاء هر لیتر بطور مستقیم به پساب مورد نظر در حوضچه‌ها اضافه شد و در تیمار شاهد هیچ‌گونه باسیلوسی اضافه نشد. در زمان شروع آزمایش و پس از تلقیح باکتریایی به پساب، تغییرات معیارهای کیفی آب نظیر نیتروژن آمونیاکی کل، ازت نیتریتی، ازت نیتراته، هدایت الکتریکی، مجموع جامدات محلول و کدورت در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شد. استفاده از این اصلاح‌کننده‌های زیستی باکتریایی در پساب سیستم پرورشی ماهی کپور بطور معنی‌داری به غلظت کمتری از نیتروژن آمونیاکی کل منتج گردید و میزان کدورت و مجموع کل باکتری‌های موجود در آب بعد از گذشت ۴۸ ساعت کاهش معنی‌داری را نشان داد. اما میزان ازت نیتراته پس از ۷۲ ساعت افزایش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). در آزمایشی دیگر، پساب تلقیح‌شده با غلظت ۱×۱۰^{۸} باکتری به ازاء هر لیتر و فاضلاب خروجی از تانک‌های پرورش ماهی کپور برای سیستم پرورش بچه‌ماهیان کپور معمولی به‌کار رفت. بعد از ۴۵ روز ماهیان پرورش‌یافته در پساب مورد تلقیح باکتریایی دارای وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و میانگین رشد روزانه ماهیان بیشتر و ضریب تبدیل غذایی کمتر نسبت به ماهیان پرورش‌یافته در فاضلاب اصلاح‌نشده بودند ($p<۰/۰۵$).

***واژگان کلیدی*: پروبیوتیک، اصلاح کننده‌های باکتریایی، کیفیت آب، پرورش ماهی**

*نویسنده مسئول: hojat.jafaryan@gmail.com

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

مقدمه

کیفیت آب در آبزی‌پروری نقش مهمی را در زندگی و سلامت ماهی‌ها ایفا می‌کند. غذاهای مورد مصرف آبزیان در سلامت آن‌ها نقش مهمی دارند، اما اگر استفاده از آن‌ها بدون برنامه باشد، باعث ایجاد شرایط نامساعد زیستی می‌شود، زیرا در فرآیند تجزیه آن‌ها، گازهای مضر وارد محیط آبی می‌شود. تعدیل این شرایط به وسیله اضافه کردن آب تازه، هوادهی و غیره صورت می‌گیرد که علاوه بر امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی نیاز به زمان زیادی دارد (Sharm and Bhukhar, 2000). در جریان پرورش آبزیان، افزایش بار مواد آلی آب اجتناب ناپذیر است مگر این‌که از طریق تعویض آب یا استفاده از مواد شیمیایی از این امر جلوگیری شود. اما استفاده از مواد شیمیایی به منابع آبی آسیب می‌رساند (Deveraja *et al*., 2013)، در حالیکه اخیراً پروبیوتیک‌ها بر بسیاری از این مشکلات غلبه کرده‌اند (Sharm and Bhukhar, 2000). موریارتی (Moriarty, 1998)، بیان کرد که از پروبیوتیک‌ها علاوه بر مکمل‌های غذایی به عنوان افزایش دهنده کیفیت آب نیز یاد می‌شود. واژه اصلاح زیستی در راستای از بین بردن آلودگی‌های آب و فاضلاب‌ها با استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید که نقش بسزایی در تجزیه مواد زائد و نامطلوب دارند، به کار برده می‌شود. استفاده از پروبیوتیک‌ها در واقع تکنولوژی جدید همسو با محیط زیست به شمار می‌رود.

طبق گزارشی که توسط پوروبکان (Porubcan, 1991a) ارائه گردید، دو روش تصفیه زیستی برای بهبود کیفیت آب و افزایش بازده تولیدی برای میگوی ببری (*Paeneus monodon*) بیان شد. روش اول، تلقیح باکتری‌های شوره‌ساز به بیوفیلترهای شناور که میزان آمونیاک و نیتریت را در آب پرورشی کاهش می‌دهند، این فرآیند باعث افزایش بازماندگی میگوها می‌شود (Porubcan, 1991a). روش دوم، افزودن گونه‌های باسیلوس در مجاورت هواده استخر باعث کاهش COD و افزایش تولید می‌شود (Porubcan, 1991b). در تحقیقی دیگر روند اصلاح زیستی در استخرهای پرورش میگوی پنائیده (Penaeidae) انجام پذیرفت. در این آزمایش بررسی و کاهش مواد زاید آلی، نیتروژن و فسفر محلول در آب با استفاده از باکتری‌های هتروتروف مختلفی انجام گرفت که در نهایت گزارش شد که باسیلوس‌ها بیشترین تأثیر را بر روی بهبود کیفیت آب پرورشی داشته و پاتوژن‌های بیماری‌زا را تا حد ممکن کاهش داده‌اند (Antony and Philip, 2006).

بسیاری از سویه‌های باسیلوس موجب کنترل گونه‌های *Vibrio luminous* در استخرهای پرورش میگو شده و به دلیل فعالیت مهارکنندگی باسیلوس‌ها در برابر ویبریوهای موجود در استخر، بازماندگی میگو افزایش یافت. علت افزایش بازماندگی یا مستقیماً در اثر عملکرد باسیلوس‌ها بر میگو بوده یا در اثر تجزیه زیستی مواد آلی و بهبود کیفیت آب پرورشی بوده است (Moriarty, 1998). ژائو و همکاران (Zhao, 2009) در تحقیقات خویش دریافتند باکتری *Bacillus cereus* برای اصلاح زیستی آب استفاده شده در

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

آب‌نماها، تأثیر داشته و این روند را تسریع بخشیده است. این باکتری منجر به حذف مواد آلی و نیتروژن پساب آب‌نماها شده و میزان شفافیت آب را نیز افزایش داده است.

شـــریف و همکاران (Sheriff, 2001) بیان کردند که عمده‌ترین پروبیوتیک‌های مورد اســـتفاده در بخش آبزی‌پروری شـامل پروبیوتیک‌های باکتریایی می‌باشـند و باکتری‌هایی که دارای توان بالقوه‌ای در فرآیند اصلاح زیستی و معدنی نمودن فاضلاب‌های آلی دارند را می‌توان به گونه‌های باکتریایی متعلق به جـنـــس‌هـــای *Bacillus* sp.، *Pseudomonas* sp.، *Acinetobacter* sp.، *Cellulomonas* sp.، *Rhodosedomonas* sp.، *Nitrosomonas* sp. و *Nitrobacter* sp. نسـبت داد. در مجموع می‌توان گفت که باسـیلوس‌ها با بالا بردن رشـد و بازماندگی (Gomez-Gil *et al*., 2000)، تحریک سـیسـتم گوارشی (Ziaei-Nejad *et al*., 2006) و سـیستم ایمنی (Gatesoupe, 1999) و بهبودی کیفیت آب (Kennedy *et al*., 1998)، عملکرد مثبتی بر ارگانیسم‌های پرورشی دارند.

هدف از این مطالعه تعدیل پارامترهای کیفی آب با استفاده از مخلوط باسیلوس‌های پروبیوتیکی است تا بتوان از طریق فرآیندهای مقرون به صرفه و کم هزینه، در زمان کوتاه‌تری نسبت به سایر روش‌ها بار آلودگی فاضلاب‌ها را کاهش داد و با توجه به کاهش منابع آبی موجود از منابع آبی مورد استفاده مجدداً بهره‌برداری کرد. همچنین در راستای جلوگیری از آلودگی آب‌های پذیرنده گام برداشته و با استفاده از روش‌های مقرون به صرفه (Gupta and Gupta, 2001) میزان تولید را افزایش داد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی پساب: پساب مورد آزمایش در این تحقیق، از آب خروجی سیستم پرورش بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با وزن متوسط ۰/۴۳± ۱/۹۴ از آزمایشگاه آبزی‌پروری دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس تهیه شد. پساب به دست آمده به مدت ۲۴ ساعت در مخازن پلاستیکی نگه‌داری شد و پس از ته‌نشینی رسوبات معلق آن (Zhao *et al*., 2009) به شش مخزن پلاستیکی با حجم آب‌گیری ۳ لیتر منتقل گردید. جهت آزمایش دو تیمار شامل پساب مورد تلقیح باکتریایی با باسیلوس‌های پروبیوتیکی و پساب اولیه و هر یک با سه تکرار در نظر گرفته شد. قبل از شروع آزمایش برخی از معیارهای کیفی آب شامل TAN[1]، NO_2-N[2]، NO_3-N[3]، EC[4]، TDS[5] تعیین گردید.

1- Total ammonia
2- Nitrite
3- Nitrate
4- Electrical conductivity
5- Total dissolved solid

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

سوسپانسیون باکتریایی: در این تحقیق از پروبیوتیک تجاری حاوی اسپورهای پنج گونه از باکتری‌های جنس باسیلوس شامل *Bacillus subtilis*، *Bacillus lichniformis*، *Bacillus polymixa*، *Bacillus laterosporus*، *Bacillus circulans* استفاده شد. سوسپانسیون پروبیوتیکی مورد نظر از شرکت پروتکسین آکواتک (ایران نیکوتک) تهیه گردید. سوسپانسیون باکتریایی با غلظت 1×10^{8} CFU/L مورد استفاده قرار گرفت. جهت آماده‌سازی غلظت مورد نظر، ابتدا با استفاده از سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور باسیلوس‌های مورد نظر برداشته و در پلیت‌های حاوی محیط کشت ژلاتینی تریپتیک سوی آگار (TSA) استریل شده، کشت داده شد. پلیت‌های کشت شده به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گردیدند (Gomez-Gil *et al.*, 1998). در پایان مدت انکوباسیون، با استفاده از آنس استریل، کلنی‌های تشکیل شده از پلیت‌های کشت جداسازی و به اپندروف‌های حاوی سرم فیزیولوژی استریل منتقل گردیدند. سپس با استفاده از شیکر در مدت ۵ دقیقه محلول هموژنی از سوسپانسیون باکتریایی تهیه شد. جهت سنجش غلظت باکتریایی مورد نظر با استفاده دستگاه اسپکتروفتومتر مدل بیوکروم[1] محلول استاندارد مک فارلند نیم، غلظت نوری[2] باکتری مورد نظر بر مبنای CFU/ml بر اساس چگالی بهینه در طول موج ۶۱۰ نانومتر تعیین شد.

معیارهای کیفی مورد سنجش: معیارهای کیفی تعیین شده در پساب اولیه در فاصله زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مجدداً اندازه‌گیری شد. NO_3-N، NO_2-N، Tota Ammonia Nitrogeon با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل اچ-آی- ۸۳۲۰۰[3] (ساخت شرکت هانا)، pH آب با استفاده از pH متر مدل هانا ۸۲۷ و کدورت[4]، EC, TDS با دستگاه پرتابل مولتی لاین بعد از کالیبره نمودن، اندازه‌گیری شد.

شمارش تعداد باکتری‌ها: نمونه‌برداری آب از تیمارهای مورد نظر در فواصل زمانی ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت در ظروف استریل صورت گرفت. تعداد کل باکتری‌ها بر حسب CFU/ml با استفاده از تشکیل رقت‌های سریالی و کشت میکروبی در محیط کشت تریپتیک سوی آگار مورد بررسی قرار گرفت. بدین ترتیب که نمونه‌های آب، پس از یکنواخت شدن با سرم فیزیولوژی (نمک ۰/۹ درصد) رقیق شدند. رقیق‌سازی سریالی با رقت 10^{1} تا 10^{7} صورت گرفت. سپس از سوسپانسیون‌های تهیه شده به میزان ۱۰۰ میکرولیتر برداشته در محیط کشت تریپتیک سوی آگار کشت داده شدند. پلیت‌های کشت مورد نظر در دمای ۳۷ درجه در انکوباتور قرار گرفتند و بعد از ۲۴ ساعت با شمارش تعداد کلنی‌های تشکیل

1- Biocrom-S11
2- Optical density
3- HI83200
4- Turbidity

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

شده در آن‌ها و با استفاده از درجه رقیق‌سازی، تعداد کل باکتری‌ها تعیین گردید (Rengpipat *et al*., 1998).

پرورش بچه ماهیان کپور: بچه ماهیان کپور معمولی از کارگاه شهید چمران در استان گلستان تهیه و به آزمایشگاه آبزی‌پروری دانشگاه گنبد کاووس منتقل گردید. پس از گذراندن مدت یک هفته عادت‌پذیری، بطور تصادفی تعداد ۳۰ قطعه ماهی به حوضچه‌های پرورشی با ظرفیت ۱۰ لیتر و تحت شرایط هوادهی منتقل گردید. روزانه ۵۰ درصد آب هر تیمار تعویض می‌شد. در تیمار پرورش ماهی در آب اصلاح شده، پساب خروجی پس از اصلاح زیستی با باسیلوس‌ها در غلظت مورد نظر به مدت ۷۲ ساعت، در حوضچه‌های پرورشی به کار گرفته می‌شد. در تیمار دوم از فاضلاب بدون اصلاح زیستی جهت پرورش استفاده گردید. تغذیه ماهیان در سطح ۵ درصد وزن بدن در سه وعده در روز صورت گرفت. پی اچ و دمای آب حوضچه‌های ماهی بطور روزانه بررسی و کنترل گردید. پس از اتمام دوره آزمایش که ۴۵ روز به طول انجامید، برخی از معیارهای تغذیه و رشد نوزادان پرورش یافته در تیمارهای آزمایشی با استفاده از بیومتری طول و وزن و بکارگیری فرمول‌های محاسباتی، تعیین گردید. این آزمایش در دو تیمار آزمایشی شامل پرورش نوزاد ماهی در آب اصلاح شده زیستی با باسیلوس‌های پروبیوتیکی با غلظت ۱×۱۰^{۸} باکتری به ازاء هر لیتر و پساب اصلاح نشده، هر تیمار شامل سه تکرار، صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده در آزمایش اصلاح زیستی پساب و نیز پرورش نوزاد ماهی کپور معمولی با استفاده از روش T-test مستقل، مقایسه بین داده‌ها در زمان‌های مختلف با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-17 انجام شد.

نتایج

نتایج به‌دست آمده از آزمایش نشان داد که با توجه به ویژگی‌های اولیه پساب (جدول ۱) غلظت باکتریایی تلقیح شده به پساب مورد نظر تغییرات معنی‌داری در پارامترهای نیتروژن آمونیاکی کل، ازت نیتریتی، ازت نیتراته و کدورت در مقایسه با شاهد همان روز ایجاد کرد. میزان NO_2-N در تیمار کنترل و آزمایشی پس از ۷۲ ساعت افزایش یافته ولی این روند فقط در روز دوم نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$) و در تیمار آزمایشی کمتر بود. همچنین میزان NO_3-N دارای روند افزایشی معنی‌داری در تیمار آزمایشی نسبت به شاهد بوده و میزان TAN نیز کاهش معنی‌داری یافت ($P<۰/۰۵$). در صورتی که تغییرات معنی‌داری در مورد TDS و EC مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). در تیمار آزمایشی کاهش معنی‌داری در محاسبه مجموع کل باکتری‌ها نسبت به شاهد همان روز مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) (جدول ۲).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

نتایج حاصل از بیومتری ماهیان نشان داد که نوزادان ماهی در تیماری که از پساب اصلاح شده با باسیلوس ها استفاده شده بود، در مقایسه با تیمار دیگر از معیارهای رشد و تغذیه بالاتری برخوردار بودند. بالاترین وزن نهایی (۳/۵۷ گرم)، نرخ رشد ویژه (۱/۲۲ درصد وزن بدن در روز) و میانگین رشد روزانه (۱/۸۷ درصد) در تیمار کپور پرورشی با استفاده از پساب اصلاح شده به دست آمد و با تیمار دوم اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$). بیشترین میزان ضریب تبدیل غذایی (۱/۴۴) در تیمار کپور پرورشی با استفاده از پساب اصلاح نشده مشاهده گردید که بین دو تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$).

جدول ۱- برخی از معیارهای کیفی پساب مورد آزمایش قبل از انجام تلقیح باکتریایی

TAN(mg/l)	NO3-N(mg/l)	NO2-N(mg/l)	Turbidity(NTU)	TDS(mg/l)	EC(µs/cm)
۲/۷۶	۵/۲۶	۰/۲۸	۶/۴	۳۷۹/۳	۷۸۷/۳

جدول ۲- میانگین معیارهای کیفی آب در پساب اصلاح شده با باسیلوس های پروبیوتیکی و پساب اصلاح نشده

پارامتر	زمان	شاهد	تیمارآزمایشی	P
NO_2-N(mg/l)	شروع	۰/۲۸±۰/۰۰۳^{c}	۰/۲۸±۰/۰۰۶^{d}	ns
	۲۴ ساعت	۰/۷۷±۰/۰۸۲^{b}	۰/۴۹±۰/۰۹۷ ^{c}	*
	۴۸ ساعت	۰/۷۳±۰/۰۴۶^{b}	۰/۷۴±۰/۰۳۶^{b}	ns
	۷۲ ساعت	۱/۱۲±۰/۰۳۰^{a}	۱/۱۱±۰/۰۳۶^{a}	ns
NO_3-N(mg/l)	شروع	۵/۲۶±۰/۰۱۴^{ab}	۵/۲۶±۰/۰۱۴ ^{b}	ns
	۲۴ ساعت	۴/۹±۰/۱۵^{b}	۴/۷±۰/۲۳ ^{c}	ns
	۴۸ ساعت	۵/۳±۰/۱۲^{a}	۵/۴۳±۰/۰۸۸ ^{b}	ns
	۷۲ ساعت	۴/۴۳±۰/۰۸۸^{c}	۷/۳±۰/۰۸۸^{a}	**
TAN(mg/l)	شروع	۲/۷۶±۰/۰۲۷^{a}	۲/۷۶±۰/۰۲۷^{a}	ns
	۲۴ ساعت	۲/۴۲±۰/۰۴۳^{b}	۱/۹۳±۰/۰۶۵ ^{c}	**
	۴۸ ساعت	۲/۰۶±۰/۰۵۲^{c}	۱/۲۲±۰/۰۴۱ ^{b}	**
	۷۲ ساعت	۱/۴۰±۰/۰۲۳^{d}	۰/۷±۰/۰۲۳^{d}	**
Turbidity(NTU)	شروع	۶/۴±۰/۰۸۴^{a}	۶/۴±۰/۰۸۴^{a}	ns
	۲۴ ساعت	۵/۹±۰/۲۲^{b}	۵/۲۳±۰/۱۱^{b}	**
	۴۸ ساعت	۶/۳۴±۰/۱۱^{ab}	۵/۲۸±۰/۰۴۳^{b}	**
	۷۲ ساعت	۵/۲۵±۰/۰۸۷^{c}	۴/۵۶±۰/۱۹^{c}	**
EC(µs)	شروع	۷۸۷±۵/۳۳^{a}	۷۸۷±۵/۳۳^{a}	ns
	۲۴ ساعت	۷۸۲±۱۹/۷^{a}	۷۹۱±۲/۳^{a}	ns
	۴۸ ساعت	۷۵۷±۸/۰۸^{a}	۷۵۷±۳/۲^{b}	ns
	۷۲ ساعت	۷۴۸±۱۸/۲^{a}	۷۲۶±۵^{c}	ns

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

ادامه جدول ۲-

TDS(mg/l)	شروع	۳۷۹/۳۳±۲/۳۳[a]	۳۷۹/۳۳±۲/۳۳[a]	ns
	۲۴ ساعت	۳۷۶/۳۳±۹/۹۵[a]	۳۸۱±۱/۱۵[a]	ns
	۴۸ ساعت	۳۶۴±۴/۰۴[a]	۳۶۴±۱/۴۵[b]	ns
	۷۲ ساعت	۳۶۰/۳۳±۹/۱۳[a]	۳۸۴±۲/۷[a]	ns
Total Count(Log_{10})	شروع	۷/۵±۰/۰۲۳[a]	۷/۵±۰/۰۲۳[a]	ns
	۲۴ ساعت	۶/۸۹±۰/۱۴[b]	۶/۶۵±۰/۲۱[b]	ns
	۴۸ ساعت	۷/۵±۰/۸[a]	۶/۷۰±۰/۱۸[b]	*
	۷۲ ساعت	۶/۲۳±۰/۵[b]	۵/۶۳±۰/۱۶[c]	*

حروف انگلیسی کوچک نشان‌دهنده مقایسه پارامتر در طول زمان است و p نشان‌دهنده اختلاف بین تیمار و شاهد در هر روز است که ** و * معنی‌دار بودن اختلاف را به ترتیب در سطح ۱ و ۵ درصد نشان می‌دهد و ns بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۳- برخی از معیارهای تغذیه و رشد نوزادان ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی

معیار / تیمار	وزن نهایی (گرم)	طول نهایی (میلی متر)	ضریب تبدیل غذایی	نرخ رشد ویژه (درصد وزن بدن‌در روز)	میانگین رشد روزانه (درصد)
کپور پروشی با استفاده از پساب اصلاح شده	۳/۵۷±۰/۱۴	۵۸/۹±۰/۸	۱/۲۷±۰/۵	۱/۲۲±۰/۰۸	۱/۸۷±۰/۱۷
کپور پروشی با استفاده از پساب اصلاح نشده	۳/۰۳۶±۰/۱	۶۰/۴۷±۰/۹	۱/۴۶±۰/۵۷	۰/۸۹±۰/۰۸	۱/۲۵±۰/۱۱
p	**	ns	**	**	**

p نشاندهنده اختلاف بین دو گروه است که ** معنی‌دار بودن اختلاف را در سطح ۱ درصد نشان می‌دهد و ns بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه میزان نیتروژن آمونیاکی کل بطور معنی‌داری نسبت به فاضلاب اولیه قبل از تلقیح در هر دو تیمار شاهد و آزمایشی کاهش یافت. البته قابل ذکر است که این میزان کاهش در تیمار آزمایشی بیشتر بوده است. علت این کاهش در تیمار شاهد به فرآیند خودپالایی آب برمی‌گردد (Zhao *et al.*, 2009). اما در رابطه با این روند کاهشی در تیمار آزمایشی باید بیان کرد که باسیلوس‌ها از یون آمونیوم به عنوان منبع نیتروژن برای رشد خود تحت شرایط هوازی استفاده می‌کنند، در نتیجه در محیط‌های آبی بطور جدی درگیر فرآیند نیتریفیکاسیون می‌شوند (Koops and Moller, 1992). گوش و همکاران

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

(Ghosh, 2007) تاثیر *B. subtilis* را بر روی اصلاح زیستی محیط پرورشی ماهیان زینتی بررسی کردند و کاهش معنی‌دار TAN را بر اثر افزودن این باسیلوس در محیط پرورشی گزارش دادند. ژائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2009) نیز بر طبق نتایج یافته‌هایشان بیان داشتند که *B. cereus* نقش به سزایی در کاهش میزان TAN پساب فواره‌های آبی داشته است.

میزان نیترات در تیمار آزمایشی در سطح معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل افزایش یافته است. بر اساس چرخه میکروبی نیتروژن و متابولیسم ترکیبات نیتروژنی غیرآلی، حذف میکروبی نیتروژن بر پایه نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون قرار گرفته است (Zhu *et al.*, 2008). باسیل‌های هتروتروف با عملکرد شیمیایی خود در فرآیندهای نیتریفیکاسیون شرکت کرده و فضولات و باقی‌مانده مواد غذایی را به نیترات تبدیل می‌کنند (Ghosh *et al.*, 2007). راوی و همکاران (Ravi, 1998) و کویروز و بوید (Queiroz and Boyd, 1998) نظراتی مشابه داشتند و تحقیقات آن‌ها حاکی از کاهش سطح آمونیاک کل و افزایش نیترات بوده است. اما، شارما و بوخار (Sharma and Bhukhar, 2000) اعلام کردند که پروبیوتیک آکوآنزیم هیچ تأثیری بر اصلاح زیستی پساب ماهی کپور نداشته و نظر ایشان همسو با یافته‌های ما نبوده است.

همان‌طور که نتایج نشان داده شفافیت از طریق تنزل ماکرومولکول‌ها به وسیله‌ی میکروارگانیسم‌ها افزایش یافته است. در تیمار کنترل بوسیله رسوب‌گذاری طبیعی طی فرآیند خودپالایی آب، میزان کدورت کاهش یافته است. قابل توجه است که در تیمار آزمایشی، کاهش کدورت و افزایش شفافیت در سطح معنی‌داری بیشتر بوده است و این به‌دلیل تجزیه و رسوب‌گذاری توسط باسیلوس‌ها می‌باشد (Zhao *et al.*, 2009).

بررسی میزان کل باکتری‌های موجود در آب در دوره آزمایش حاکی از این موضوع بود که در پایان آزمایش مجموع کل باکتری‌ها کاهش یافته است. علت این موضوع به رقابت فلور باکتریایی موجود در پساب بر سر غذا و فضا با باسیلوس‌های پروبیوتیکی اضافه شده برمی‌گردد. یافته‌های این مطالعه بیان‌گر توانمندی باسیلوس‌های پروبیوتیکی در حذف فلور باکتریایی موجود در آب می‌باشد که باکتری‌ها با تولید آنتی بیوتیک‌ها موجب این امر می‌شوند (Moriarty, 1997; Verschuere *et al.*, 2000). گوش و همکاران (۲۰۰۷) طی تحقیقی با افزودن باسیلوس‌ها به آب پرورشی ماهی و محاسبه تعداد کل باکتری‌های کلی فرمی، دریافتند که تعداد این باکتری‌ها در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار کنترل کاهش یافته است. آن‌ها علت را این‌گونه بیان کردند که باسیلوس‌ها اگزوآنزیم‌هایی ترشح می‌کنند که موجب کاهش لایه موکوسی و بیوفیلم می‌شود و در نهایت منجر به نفوذ آنتی بیوتیک‌های مترشحه از لایه‌های موکوسی در اطراف باکتری‌های گرم منفی شده و موجب مرگ آن‌ها می‌شود (Ghosh *et al.*, 2007). این یافته‌ها هم‌سو با یافته‌های علی (Ali, 2000) و مارکیدس و همکاران (Makridis, 2001) می‌باشد، که پس از

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

افزودن سلول‌های باکتریایی پروبیوتیک در آب پرورش ماهی، پی بردند که تعداد آئروموناس و سایر باکتری‌های گرم منفی کمتر شده است.

در خصوص هدایت‌الکتریکی و TDS تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار از لحاظ بررسی این دو پارامتر مشاهده نشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که باسیلوس‌ها در تغییر این پارامترها نقشی نداشتند.

مقایسه میانگین وزنی نوزادان ماهی کپور نشان داد که در آب پرورشی تیماری که توسط باسیلوس‌های پروبیوتیکی تلقیح شده بود دارای رشد وزنی بیشتری بودند و ضریب تبدیل غذایی کمتری را از خود نشان دادند و همچنین بطور چشم‌گیری افزایش اشتهای ماهیان در این تیمار نسبت به تیمار شاهد نیز مشاهده شد. مطالعات نشان می‌دهد تلقیح باسیلوس‌های پروبیوتیکی به آب سیستم‌های پرورشی موجب بهینه‌سازی معیارهای فیزیکوشیمیایی آب شده و از سوی دیگر ورود این میکروارگانیزم‌ها از طریق آب وارد شده به دستگاه گوارش این ماهیان و کلنی‌سازی در آن سبب می‌گردد تا مواد غذایی خورده شده توسط ماهی در فرآیند ترشح آنزیم‌های گوارشی خارج سلولی این باکتری‌ها نظیر لیپاز، پروتئاز و آمیلاز، به خوبی مواد غذایی هضم و جذب شده و در نتیجه رشد ماهی ارتقاء پیدا کند (Yanbo and Zirong, 2006). هم‌سوی با نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، جعفریان و همکاران (Jafaryan, 2010) گزارش کردند که افزودن باسیلوس‌های پروبیوتیکی در غلظت ۱×۱۰^{۶} باکتری به ازای هر لیتر به آب حوضچه‌های پرورشی لارو ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) منجر به افزایش عملکرد رشد و تغذیه در لاروهای این ماهی گردید. این محققین افزایش عملکرد رشد را از یک سو به تأثیر پروبیوتیک‌ها بر کارایی روده در هضم و جذب بهتر غذا و از سویی دیگر به ارتقاء کیفیت فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب محیط پرورشی این ماهی نسبت داده‌اند. در همین راستا ضیائی نژاد و همکاران (Ziaei-Nejad, 2006) بیان کردند که افزودن باسیلوس‌ها در غلظت $۷/۳\times۱۰^{۶}$ پرگنه به ازای هر میلی‌لیتر به محیط پرورشی میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) رشد را در حد معنی‌داری در مقایسه با تیمار کنترل افزایش داد. این محققین نشان دادند که در طی تلقیح باسیلوس‌های پروبیوتیکی به آب استخرهای پرورشی این میگو، معیارهای کیفی آب نظیر اکسیژن افزایش یافته است. در حالی‌که در مغایرت با یافته‌های این تحقیق بوید و همکاران (Boyd, 1984)، ادعا کرده‌اند که فرآورده‌های باکتریایی مورد استفاده به آن اندازه که ادعا شده سودمند نبوده است و افزودن فرآورده‌های باکتریایی تجاری تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای کیفی آب استخرهای گربه ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) و همچنین رشد این ماهی نداشته است. همچنین گزارشاتی نیز مبنی بر عملکرد منفی باسیلوس‌های پروبیوتیکی اضافه شده به آب محیط پرورشی ماهیان ارائه شده است. در این خصوص جعفریان و همکاران (Jafaryan *et al.*, 2009) نشان دادند که تلقیح باسیلوس‌های پروبیوتیکی به آب حوضچه‌های پرورشی لارو ماهی بیگ هد (*Aristichthys nobilis*) تأثیر منفی بر عملکرد رشد و تغذیه این ماهی در مقایسه با گروه شاهد

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

داشت. این تفاوت در عملکرد، به نوع باکتری پروبیوتیکی، غلظت بکارگیری و شرایط پرورشی ماهی مورد نظر بستگی دارد (Verschuere *et al*., 2000).

نتایج این تحقیق نشان داد که باسیلوس‌های پروبیوتیکی به‌عنوان عوامل بیولوژیکی بسیار با اهمیت، توانایی بالایی در بهینه‌سازی فاکتورهای کیفی پساب خروجی از سیستم پرورشی ماهی کپور داشته و می‌توانند به یک راه حل پیشنهادی مناسب جهت بهینه‌سازی فاضلاب‌های خروجی استخرهای پرورش ماهی به‌منظور استفاده مجدد از آن‌ها در امر پرورش ماهی باشند. از سویی دیگر می‌توان نتیجه گرفت که باسیلوس‌های پروبیوتیکی از یک سو منجر به بهینه‌سازی محیط پرورشی و استفاده مجدد از منابع آبی گردیده و از سوی دیگر با اصلاح زیستی پساب‌های پرورشی، کمک می‌کنند تا منابع آبی پذیرنده این پساب‌ها کمتر دچار آلودگی شده و گونه‌های با ارزش ماهیان و دیگر آبزیان موجود در طبیعت کمتر مورد تهدید فعالیت‌های انسانی قرار گیرند. لذا از این جهت کمک شایانی به حفظ گونه‌های با ارزش موجود در محیط‌های طبیعی می‌شود.

منابع

Ali A. 2000. Probiotics in fish farming evaluation of a candidate bacterial mixture. PhD thesis, Department of Aquaculture, Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden. Available onlinea thttp://wwwvabr.slu.se.

Antony S.P., Philip R. 2006. Bioremidation in shrimpe culthure. NAGA. World Fish Center Quarterly, 29(3 and 4): 62-66.

Boyd C.E., Hollerman W.D., Plumb J.A., Saeed M. 1984. Effect of treatment with a commercial bacterial suspension on water quality in channel catfish ponds. Progressive Fish-Culturiste, 46: 36-40.

Deveraja Th., Banerjee S., Yusoff F., Sharif M., Khatoon, H. 2013. A holistic approach for selection of *Bacillus* spp. as a bioremediator for shrimp postlarvae culture. Turkish Journal of Biology, 37: 92-100.

Gatesoupe F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture, 180: 147-165.

Ghosh Sh., Sinha A., Sahu Ch. 2007. Bioaugmentation in the growth and water quality of livebearing ornamental fishes. Aquaculture International, 16: 393–403.

Gomez-Gil B., Herrera-Vega M.A., Aberu-Grobis F.A., Roque A. 1998. Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the Brine shrimp (*Artemia fransiscana*). Applied Environmental microbiology, 64: 2318- 2322.

Gomez-Gil B., Roque A., Turnbull J.F. 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. Aquaculture, 191: 259-270.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

Gupta A.B., Gupta, S.K. 2001. Simultaneous carbon and nitrogen removal from high strength domestic wastewater in an aerobic RBC biofilm. Water Research, 35: 1714–1722.

Jafaryan H., Kheyri J., Shokri, S. 2009. A study on the feeding efficiency of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and big head (*Aristichthys nobilis*) larvae fed with nauplii of different Artemia species. International symposium /workshop on Biology, Distribution of Artemia. 13-14 December. Urmia-Iran. P. 290-293.

Jafaryan H., Soltani M., Noferesti H., Ebrahimi, P. 2010. Effect of adding probiotics into the rearing tanks of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) for the exploitation of and Nauplii *Artemia urmiana, Artemia fransiscana, Artemia parthenogenetica.* International Journal of Veterinary Research, 3:125-128.

Kennedy S.B., Tucker J. W., Neidig C.L., Vermeer G.K., Cooper V.R., Jarrell J.L., Sennett D.G. 1998. Bacterial management strategies for stock enhancement of warm water marine fish: a case study with common snook (*Centropomus undecimalis*). Bull. Mar. Sci., 62: 573–588.

Koops H.P., Mooller U.C. 1992. The lithotrophic ammonia-oxidizing bacteria. In: Balows A., Tru¨per H.G., Dworkin M., Harder W., Schleifer K-H (eds) The prokaryotes, Vol. III. Springer, Berlin, Germany, p: 2625–263.

Makridis P., Bergh Ø., Skjermo J., Vadstein O. 2001. Addition of bacteria bioencapsulated in Artemia metanauplii to a rearing system for halibut larvae. Aquac Int, 9: 225–235.

Moriarty D.J.W. 1997. The role of micro organisms in aquaculture ponds. Aquaculture, 151: 333-349.

Moriarty D.J.W. 1998. Control of luminous Vibrio species in penaeid aquaculture ponds. Aquaculture, 164: 351-358.

Porubcan R.S. 1991a. Reduction of ammonia nitrogen and nitrite in tanks of *Penaeus monodon* using floating biofilters containing processed diatomaceous earth media preinoculated with nitrifying bacteria. Program and Abstracts of the 22nd Annual Conference and Exposition, 15-20 June 1991, San Juan, Puerto Rico. World Aquaculture Society.

Porubcan R.S. 1991b. Reduction in chemical oxygen demand and improvement in Penaeus monodon yield in ponds inoculated with aerobic Bacillus bacteria. Program and Abstracts of the22nd Annual Conference and Exposition, 16-20 June 1991, San Juan, Puerto Rico. World Aquaculture Society.

Queiroz J.F., Boyd C.E. 1998. Effects of a bacterial inoculum in channel catfish ponds. Journal of World Aquaculture Soc., 29: 67–73.

Ravi V., Khan S.A., Rajagopal S. 1998. Influence of probiotics on growth of Indian white prawn Penaeus. Microbial Molecular Biology Reviews, 60: 359-375.

Rengpipat S., Phianphak W., Piyatiratitivurakul S., Menasveta, P. 1998. Effect of Probiotic Bacterium on Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon* Survival and Growth. Aquaculture, 167: 301-313.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]

Sharma O.P., Bhukhar S.K.S. 2000. Effect of Aquazyn-TM-1000, a probiotic on the water quality and growth of *Cyprinus carpio* var. *communis* (L.). Indian J. Fish., 47(3): 209-213.

Sheriff M., Yussoff F.M., Devaraja T.N., Srinivasa Rao S.P. 2001. The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon*, ponds. Aquaculture Research, 32:181-187.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbial Molecular Biology Reviews, 64: 655-671.

Yanbo W., Zirong X. 2006. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Animal feed science and technology, 127: 283-292.

Zhao Sh., Hu N., Chen Z., Zhao B., Liang Y. 2009. Bioremediation of reclaimed Wastewater used as landscape Water by using the denitrifying bacterium *Bacillus cereus*. Bull Environ Contam Toxical, 83: 337-340.

Ziaei-Nejad S., Habibi Rezaei M., Azari Takami G., Lovett D.L., Mirvaghefi A.R., Shakouri, M. 2006. The effect of *Bacillus spp*. Bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. Aquaculture, 252: 516-524.

Zhu G., Peng Y., Li B., Guo J., Yang Q., Wang Sh. 2008. Biological Removal of Nitrogen from Wastewater. Rev Environ Contam Toxicol, 192: 159–195.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-11-05]