



باسیلوس‌ها پروبیوتیک‌های امید بخش در صنعت آبی‌پروری

مهدی سلطانی^{۱*}، روزین فرشگر^۲.

۱- گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، msoltani@ut.ac.ir

۲- دانش آموزانه دکتری دامپزشکی دانشگاه رازی کرمانشاه، rozhinfarshgar3000@gmail.com

خلاصه

گونه‌های باسیلوس باکتری‌های هاگ‌زایی هستند که در برابر شرایط تهاجمی فیزیکی و شیمیایی مقاوم بوده و گونه‌های مختلف آنها واجد ویژگی‌های فیزیولوژیکی غیرعادی بوده بطوری که آنها را قادر به زنده ماندن در شرایط مختلف محیطی از جمله آب‌های شیرین، رسوبات دریایی، ماسه‌های بیابانی، چشمه‌های آب گرم، خاک‌های قطبی و مجاری گوارشی ماهیان و سخت پوستان می‌نماید. باکتری‌های باسیلوس قادر به تکثیر سریع و تحمل بسیاری از شرایط محیطی بوده و موجب طیف وسیعی از اثرات سودمند در بخش آبی‌پروری می‌شوند. کاربرد گونه‌های باسیلوس به عنوان پروبیوتیک در خوراک یا برای تصفیه زیستی آب‌های پرورشی آبزیان پتانسیل زیادی برای آبی‌پروری پایدار ایجاد کرده است. گونه‌های باسیلوس ممکن است نقش مطلوبی در حذف مواد زائد از محیط‌های آبی‌پروری، حفظ کیفیت بهینه آب و کاهش استرس داشته باشند که می‌تواند منجر به بهبود تعادل ایمنی و فیزیولوژی، رشد بهتر و افزایش بقا ماهیان و سخت پوستان می‌شوند. پروبیوتیک‌های از نوع باسیلوس همچنین قادر به حفظ تراکم بالاتر باکتری‌های مفید و کاهش عوامل بیماری‌زا در استخرهای آبی‌پروری می‌باشند. جزئیات نحوه عملکرد باکتری‌های باسیلوس بر عملکردهای ایمنی و فیزیولوژی جانوران آبی‌پروری و همچنین عملکرد آنها به عنوان پاک‌کننده‌های زیستی آب از لحاظ کیفی نیاز به مطالعات بیشتری دارد. در این مقاله وجود گونه‌های باسیلوس در دستگاه گوارش ماهیان و سخت پوستان، توانایی آن‌ها در تولید آنزیم‌ها و ترکیبات ضد باکتریایی، و کارایی و قدرت آنها به عنوان پروبیوتیک در آبی‌پروری پرداخته خواهد شد.

کلمات کلیدی: باسیلوس، پاکسازی زیستی، رشد، ایمنی، پروبیوتیک.

۱. مقدمه

در دهه ۱۸۷۰ (کوهن ۱۸۷۶)، کخ (۱۸۷۶) و تیندال (۱۸۷۷) به طور مستقل کشف کردند که گونه‌های خاصی از باکتری‌ها در مراحل از زندگی خود به صورت اندوسپور می‌باشند. این باکتری‌ها بعداً به عنوان جنس باسیلوس طبقه‌بندی شدند و اکنون در شاخه فیرمیکوت‌ها (سفت پوستان) طبقه‌بندی می‌شوند. این باکتری‌ها گرم مثبت، هاگ‌زا، هوازی یا بی‌هوازی اختیاری، با ظاهری میله‌ای شکل (۱۰-۲.۵ میکرومتر) و کاتالاز مثبت می‌باشند. جنس باسیلوس متشکل از حدود ۲۰۰ گونه باکتری بوده و در طبیعت تقریباً در همه جا مانند خاک، کمپوست (باسیلوس کمپوست و باسیلوس ترموفیلوس [۱])، محیط آبی [۲]، [۳] و همچنین در دستگاه گوارش (GI) حیوانات آبی [۴] زندگی می‌کنند. این باکتری‌ها خواص فیزیولوژیکی کاملاً متنوعی مانند توانایی تولید سلولاز، فیتاز، تاناز، کیتیناز، زایلاناز، پروتئاز و لیپاز دارند [۴]، [۵]. باسیلوس‌ها



مواد ضد باکتریایی مانند پیتید، آنتی بیوتیک‌های لیوپپتیدی و باکتریوسین تولید می‌کنند [۶]، [۷]. ظرفیت هاگ‌زایی، تولید مواد و آنزیم‌های ضد میکروبی سبب کلونی‌سازی جنس باسیلوس در زیستگاه‌های مختلف شده و به تغذیه میزبان کمک می‌کند. سویه‌هایی از باسیل به عنوان پروبیوتیک به منظور کنترل گونه‌های ویبریو در استخرهای آبی پروری پنایید [۸] و همچنین به عنوان پروبیوتیک‌های غذایی [۹] به طور گسترده استفاده می‌شود. عملکرد مناسب دستگاه گوارش برای تولیدات پایدار ضروری و موثر است. عملکرد مناسب دستگاه گوارش و میکروفلور روده نقش مهمی در سلامت میزبان بازی می‌کند [۱۰]، [۱۱]، [۱۲] که در آن چندین مکانیسم پیچیده درگیر هستند. جمعیت میکروبی روده ماهی متأثر از آناتومی بدن ماهی مانند وجود و یا عدم وجود معده، زواید باب المعده و روده کوتاه و بلند (طول نسبی روده) می‌باشد. در طول ۲۰ سال گذشته، مطالعات متعددی در مورد باسیلوس‌های موجود در روده ماهی‌یان و سخت‌پوستان، پتانسیل آنها به عنوان پروبیوتیک، بیماری‌زایی و تأثیر آنها بر سیستم ایمنی منتشر شده است [۱۳]. بررسی فعلی یک نمای کلی از داده‌های منتشر شده در مورد باسیلوس دستگاه گوارش ماهی‌یان و سخت‌پوستان، توانایی آنتاگونیستی، فواید آنها به عنوان پروبیوتیک، بیماری‌زایی و تأثیر آنها بر تحریک سیستم ایمنی ارائه می‌دهد.

۲. باسیلوس‌های دستگاه گوارش ماهی‌یان و سخت‌پوستان

عملکرد مناسب دستگاه گوارش برای تولید پایدار حیوانات آبی اهمیت دارد و سه بخش رژیم غذایی، مخاط و میکروفلور دستگاه گوارش بر سلامت روده تأثیرگذار می‌باشد. ارزیابی میکروفلور روده ماهی‌یان به اواخر دهه ۱۹۲۰ و اوایل دهه ۱۹۳۰ برمی‌گردد [۱۴]، [۱۵] و از آن موقع مطالعات متعددی منتشر شده است. میکروفلور دستگاه گوارش در ماهی به دو دسته تقسیم می‌شود. میکروفلور لوله دستگاه گوارش (غیرخودی)، و آنهایی که به سطح مخاطی دستگاه گوارش (میکروفلور خودی) متصل اند تقسیم می‌شوند. عوامل متعددی می‌توانند میکروفلور روده را تعدیل کند [۱۶]. میکروفلور روده در جابجایی و رقابت با عوامل بیماری‌زا در جذب مواد مغذی و گیرنده، تولید عوامل ضد میکروبی و ساختاری (تحریک ایمنوگلوبین A، اتصال محکم و توسعه سیستم ایمنی) و چندین عملکرد متابولیک تأثیر می‌گذارد. در میکروفلور دستگاه گوارش جانوران آبی، حضور شاخه فیرمیکوت‌ها که شامل جنس باسیلوس است ضروری می‌باشد. تا کنون گونه‌های باسیلوس مختلفی از دستگاه گوارش گونه‌های متعدد ماهی‌یان و سخت‌پوستان جداسازی و شناسایی شده است که از آن جمله می‌توان به گونه‌های باسیلوس سرئوس (*B. cereus*)، باسیلوس آئروفیلوس (*B. aerophilus*)، باسیلوس آئوس (*B. aerius*)، باسیلوس آمیلولیکوفاسینس (*B. amyloliquefaciens*)، باسیلوس سوبتیلیس (*B. subtilis*)، باسیلوس سیرکولانس (*B. circulans*)، باسیلوس فلکسوس (*B. flexus*)، باسیلوس کوآگولانس (*B. coagulans*)، باسیلوس مگاتریوم (*B. megaterium*)، باسیلوس متیلوتروفیکوس (*B. methylotrophicus*)، باسیلوس ترموآمیلولورانس (*B. thermoamylovorans*)، باسیلوس آتروفئوس (*B. atrophaeus*)، باسیلوس سونورنسیس (*B. sonorensis*) اشاره نمود.

۳. محصولات باسیلوس‌ها: اگزو آنزیم‌ها

جنس باسیلوس در همه جا حضور دارد و یکی از پرکاربردترین پروبیوتیک‌ها در آبی‌پروری جنس باسیلوس می‌باشد [۹] [۲۰] [۱۷]. این باکتری‌ها هم از نظر فنوتیپی و هم از نظر ژنوتیپی ناهمگن هستند. در نتیجه، خواص فیزیولوژیکی کاملاً متنوعی از خود نشان می‌دهند، به عنوان مثال، توانایی تخریب بسترهای مختلف مشتق شده از منابع گیاهی یا حیوانی شامل سلولز، نشاسته، پروتئین‌ها، هیدروکربن‌ها را دارند [۱۸]. علاوه بر این، برخی از گونه‌های باسیلوس نیتریفایرهای هتروتروف، باکتری‌های شوره‌زا (احیاکننده نیترات)، تثبیت‌کننده‌های نیتروژن، عامل رسوب آهن، اکسیدکننده سلنیوم، اکسیدکننده



و احیا کننده منگنز، کانی پرور (chemolithotroph) اختیاری، اسید دوست، باز دوست، سایکروفیل و ترموفیل هستند [۷]. جنس باسیلوس از نظر متابولیک فعال بوده و مقدار زیادی از آنزیم‌های مفید و ترکیبات ضد میکروبی تولید می‌کنند [۱۹]. ویژگی‌های پروبیوتیکی باسیل‌ها اغلب به متابولیت‌های آن‌ها مربوط می‌شود که طیف گسترده‌ای از مواد با عملکردهای بیولوژیکی متنوع را در بر می‌گیرد. به طور کلی، باسیلوس‌ها به عنوان تولیدکنندگان اصلی مواد پروتئینی شناخته شده است که شامل آنزیم‌ها و باکتریوسین‌ها یا مواد بازدارنده می‌باشد [۲۰].

۴. باکتریوسین‌های تولید شده توسط باسیلوس‌ها و فعالیت ضد باکتریایی

ترکیبات ضد میکروبی تولید شده توسط باکتری‌ها معمولاً به دو گروه متابولیت‌های ثانویه غیر ریبوزومی، مانند آنتی بیوتیک‌های پپتیدی یا لیپوپپتیدی و هم چنین پروتئین‌ها و پپتیدهای سنتز شده از طریق ریبوزوم، مانند باکتریوسین‌ها تقسیم می‌شوند [۷] [۲۱].

باکتریوسین‌ها پپتیدهای ضد میکروبی سنتز شده توسط ریبوزوم هستند [۲۲]. باکتریوسین‌ها فراوان‌ترین و متنوع‌ترین ترکیبات تولید شده ضد میکروبی هستند [۲۳]. این مواد ناهمگن خصوصیات بیوشیمیایی، طیف‌های بازدارندگی، وزن مولکولی و مکانیسم‌های عمل متفاوتی را دارند [۲۴]. آنتی بیوتیک‌های فراوانی برای درمان باکتریایی در ماهیپان استفاده شده است با این حال، استفاده گسترده از آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف و داروهای ضد میکروبی به دلیل ظهور باکتری‌های مقاوم باید محدود گردد [۲۵]. توسعه مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان میکروارگانیسم‌های مرتبط با بیماری‌های ماهی در سال‌های گذشته به یک نگرانی جهانی تبدیل شده است [۲۶]. ترکیبات ضد باکتریایی، پروتئین‌هایی با خاصیت پیشگیری و یا درمانی می‌باشند که مقاومت ایجاد نمی‌کنند [۲۷]. در این راستا باکتریوسین‌ها با منشأ طبیعی برای کنترل بیماری‌های باکتریایی در آبی‌پروری پیشنهاد شده است [۲۸]، [۲۹]. باکتریوسین‌های تولید شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [۳۰]، [۱۲]، در حالی که، گونه‌های باسیلوس در این رابطه کمتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [۷]. جنس باسیلوس شامل مجموعه‌ای از گونه‌های مهم و ایمن هم در صنایع غذایی و هم در صنعت می‌باشد [۳۱] از این رو می‌توان در صنعت آبی‌پروری به عنوان پروبیوتیک برای پیشگیری از برخی بیماری‌های باکتریایی مانند سپتی‌سمی ناشی از آئروموناس‌های متحرک و ویبریوز به کار برد. باکتریوسین باسیلوس‌ها به دلیل طیف وسیع‌تری از بازدارندگی در برابر باکتری‌های گرم منفی و گونه‌های گرم مثبت متعلق به جنس آئروموناس، ادواردسیلا، استرپتوکوک، سودوموناس و ویبریوز کاربرد فزاینده‌ای پیدا کرده‌اند [۳۲]، [۳۳]، [۳۴]. اگرچه چندین مطالعه بر روی باکتریوسین باسیلوس‌ها جنبه‌های مهم خود را از ایمنی مواد غذایی به نمایش گذاشته‌اند [۳۵]، [۷]، [۳۶]، تعداد کمی از کاربردهای بالقوه این ترکیبات ضد میکروبی را مورد توجه قرار داده‌اند. علاوه بر این، در مطالعات روده ماهی و باسیل‌های مرتبط با توجه به پتانسیل باکتریوسین‌زنی احتمالی به ندرت مورد توجه قرار گرفته‌اند [۳۷]، [۳۸]. بنابراین شناسایی باسیل‌های باکتریوسین‌زنی روده ماهی و ترکیبات ضد باکتری آن‌ها نیاز به مطالعه بیشتر دارد.

۵. باسیل به عنوان زیست پالایی کیفیت آب

اکوسیستم‌های آبی به خصوص در بخش آبی‌پروری توسط منابع مختلف آلودگی به شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرد و زیست پالایی توسط باکتری‌های پروبیوتیک فرآیندی است که در آن از باکتری‌های مفید برای پاکسازی آب و خاک آلوده استفاده می‌شود. به طور کلی زیست پالایی آب استخرهای پرورشی توسط پروبیوتیک‌ها می‌تواند از راه‌های مختلفی انجام شود از جمله بهبود میزان نیتریفیکاسیون به منظور کاهش غلظت آمونیاک، نیتروژن‌زدایی جهت حذف نیتروژن اضافی از استخرها،



افزایش اکسیداسیون سولفید برای کاهش سولفید هیدروژن انباشته شده، افزایش تبدیل کربن به دی اکسید کربن به منظور کاهش تجمع لجن، افزایش بهره‌وری استخرهای پرورشی، افزایش تولید آبزیان پرورشی مورد هدف و محصولات ثانویه و حفظ یک جمعیت متنوع و پایدار برای جلوگیری از تسلط گونه‌های نامطلوب در استخرها. پروبیوتیک‌هایی مانند باسیلوس می‌تواند جمعیت میکروبی را در آب و رسوبات تعدیل کند که منجر به کاهش و یا حذف برخی از عوامل بیماری‌زا می‌شود و همچنین رشد و بقا حیوان مورد نظر بهبود بیابد. از میان باکتری‌های پروبیوتیک، گونه باسیلوس با بهبود کیفیت آب مرتبط است. باکتری‌های گرم مثبت در تبدیل مواد آلی به CO₂ در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی کارآمدتر هستند [۳۹]. تجمع ذرات محلول و معلق در آب پدیده بسیار رایجی است که در طول چرخه تولید میگو مشاهده می‌شود با این وجود میزان بالای باکتری‌های گرم مثبت (مثلاً باسیلوس‌ها به عنوان پروبیوتیک) سبب کاهش سطوح کربن آلی در سیستم می‌شود. هنگامی که سویه‌های خاصی از گونه‌های باکتری متعلق به جنس باسیلوس به عنوان یک پاک‌کننده زیستی بالقوه به میزان کافی به آب اضافه می‌شوند با میکروفلور باکتریایی که به طور طبیعی در آب وجود دارد و از مواد آلی موجود در آب مانند باقیمانده‌های غذایی و مدفوع آبزیان تغذیه می‌نماید رقابت می‌کند. هم چنین فعالیت متقابل بیولوژیکی منعکس کننده ظرفیت این باکتری‌ها در تولید آنزیم وابسته به برخی شرایط محیطی مانند دمای آب، اکسیژن محلول، مواد آلی و معدنی می‌باشد. در یک مطالعه اولیه، پیشنهاد کردند که درجه حرارت بر رشد، جذب و استفاده از مواد از طریق تغییر فعالیت آنزیم‌ها اثر می‌گذارد [۴۰]. علاوه بر این، شرایط قلیایی و اسیدی محیط بر تخریب نیتروژن آمونیاکی توسط برخی باکتری‌های باسیلوس تأثیر می‌گذارد. سطح تجزیه نیتروژن آمونیاک نشان می‌دهد که نیتروژن آمونیاکی مصرف شده در محیط برای تکثیر سلول‌های باکتریایی جدید استفاده می‌شود.

۶. کاربرد باسیل‌ها به عنوان پروبیوتیک در ماهی

در طول دهه گذشته تلاش‌های فراوانی برای ارزیابی انواع مختلف باکتری‌ها به عنوان پروبیوتیک در آبی‌پروری صورت گرفته است [۱۲]، [۴۱]. در میان سویه‌های باکتریایی جنس باسیلوس امیدوار کننده بوده اثرات مفیدی بر عملکرد رشد و مقاومت در برابر بیماری‌های مختلف ماهی نشان دادند [۴۲]، [۴۳]، [۴۴]. در مطالعات بر روی باسلوس‌ها به نظر می‌رسد تمرکز اصلی روی باسیلوس سوبتیلیس بوده است [۴۵]. استفاده از باسیل‌ها در سخت پوستان مانند میگو با بهبود عملکرد رشد، پارامترهای ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها دارای نتایج امیدوار کننده بوده است [۲۰].

۷. ایمنی باسیلوس‌ها

استفاده از باسیلوس‌ها به عنوان پروبیوتیک در غذای حیوانات آبی یا مکمل‌های غذایی و ورود آن به زنجیره غذایی انسان باید به عنوان یک مسئله مهم در بهداشت عمومی در نظر گرفته شود با این حال، هیچ اطلاعاتی در رابطه با خطر آلودگی غذای انسان به آن وجود ندارد. باسیل‌های مورد استفاده در آبزیان با انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی از طریق وجود ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی قابل انتقال در برخی از باکتری‌های پروبیوتیک یکی از خطرات حیاتی است. همچنین عفونت‌های ناشی از پروبیوتیک‌ها و وجود انتروتوکسین‌ها و سمومی که سبب ایجاد حالت استفراغ می‌شود. با این حال، تقریباً تمام گزارشات مربوط به پروبیوتیک‌های باسیلوس در آبی‌پروری، با اثربخشی آن‌ها مرتبط است. همچنین شایان ذکر است که ارزیابی ایمنی و داده‌های مربوط به یک سویه خاص باسیلوس را نباید مشترک با سویه مشابه در نظر گرفت و ارزیابی ایمنی و خطر هر پروبیوتیک باید جداگانه مورد توجه قرار گیرد. اثر منفی یک پروبیوتیک خاص به سطح حساسیت، شرایط ایمنی و فیزیولوژیکی حیوان آبی هدف (به عنوان مثال لاروهای ماهی زود هج شده) بستگی دارد بنابراین، این امکان وجود دارد



که یک سویه باسیلوس به عنوان پروبیوتیک تحت شرایط خاص ایمن در نظر گرفته می شود اما در شرایط دیگر نایمن باشد. همانند آنتی بیوتیکها، می توان گفت که هیچ پروبیوتیک خاصی وجود ندارد که ۱۰۰ درصد ایمن در نظر گرفته شود. همچنین وجود باکتریهای ناخواسته و ایجاد آلودگی و یا مواد سمی آنها در یک پروبیوتیک نیز می تواند به عنوان یکی دیگر از مسائل مهم ایمنی و موثر در کیفیت در نظر گرفته شود. در حال حاضر پروبیوتیکهایی مانند گونههای باسیلوس در خوراک آبیان استفاده می شود عموماً ایمن در نظر گرفته می شود. با این حال، برخی از باکتریهای پروبیوتیک خطر انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی را به باکتریهای بیماریزا دارند [۴۶].

۸. نتیجه گیری

گزارشهای متعددی در ماهیپان و سخت پوستان ها در مورد حضور باسیلوس در دستگاه گوارش وجود دارد. با این حال، هنگام بررسی باسیلوس در دستگاه گوارش، یک نگرانی عمده وجود دارد. مطالعات فراوانی در خصوص میکروفلورهای دستگاه گوارش و روده که در نمونههای مدفوع موجود می باشد، وجود دارد. در حالی که مطالعات کمتری بر روی باکتریهایی متمرکز شده است که در سطح مخاط دستگاه گوارش هستند که در عملکرد فیزیولوژیکی بدن مهم هستند. بنابراین توصیه می کنیم در مطالعات آتی، تمرکز بیشتری روی آن داشته باشید. هنگام ارزیابی میکروفلور روده، از جمله باسیلوسهای موجود در دستگاه گوارش ماهیپان و سخت پوستان از روشهای جدید که قابلیت توالی یابی گسترده ای دارند استفاده شود. استفاده از باکتری باسیلوس به عنوان پروبیوتیک در خوراک یا به عنوان باکتری تجزیه کننده زیستی در استخرهای پرورش آب و خاک در حال حاضر یک حرکت پایدار برای کاهش اثرات زیست محیطی ناشی از صنعت آبی پروری می باشد. تولید محصولات تجاری پروبیوتیک بر پایه باسیلوسها به منظور زیست پالایی و بهبود کیفیت آب آبیان و موجودات آبی نه تنها افزایش اثربخشی زیست پالایی را نشان داد، بلکه بقای آنها را نیز بهبود بخشیده و منجر به تراکم باکتریهای مفید و بار کم تر عامل بیماریزا در استخرها گردید. باسیلها به عنوان پروبیوتیک، نقش مهمی در حفظ پارامترهای کیفیت آب و کاهش گازهای سمی شامل آمونیاک، نیتريت، نیترات، سولفید هیدروژن و دی اکسید کربن و در طول دوره رشد منجر به کاهش قابل توجه سطح استرس می گردد. حذف عوامل استرسزا، منجر به تعادل ایمنی و فیزیولوژیکی مطلوب در حیوان مورد نظر با عملکرد بهتر رشد و نرخ بقا به عنوان نتیجه نهایی فعالیت آبی پروری می گردد. بنابراین، کاربرد باسیلوس به عنوان پروبیوتیک در آبی پروری به سرعت در حال رشد است. به ویژه در مناطقی که سیستم های آبی پروری فشرده توسعه یافته است. باسیلوسها به عنوان اجزای محصولات کنترل زیستی چه در خوراک و چه در ستون آب و رسوب اغلب به عنوان مخلوطی از گونه های مختلف برای ارائه طیف وسیعی از اثرات مفید استفاده می شود. در سیستمهای آبی پروری باسیلها به عنوان باکتریهای موجود در رسوبات نیز به طور طبیعی توسط حیوانات آبی بلعیده می شوند همچنین، در مورد اثرات یک گونه یا سویه خاص باسیلوس بر روی گونههای مختلف ماهی و سخت پوست، سن، شرایط رشد، کیفیت آب و انواع رژیم غذایی می تواند شرایطی را که در آن پروبیوتیکها می توانند به خوبی اثر می گذارد را شناسایی کند. باسیلوسها در مورد انتقال ژنهای مقاومت آنتی بیوتیکی مشکوک است. پروبیوتیکهای باسیلوس قادر به تکثیر سریع هستند و بسیاری از شرایط محیطی را تحمل می کنند که طیف وسیعی از اثرات مفید در بخش آبی پروری ایجاد می کند. همچنین، فرآیند هاگ زایی توسط پروبیوتیکهای باسیلوس قابلیت فرمولاسیون و همچنین بسته بندی محصولات اسپور پروبیوتیکها را به صورت پایدار ایجاد می کند. با این حال، برخی از گونههای باسیلوس که به عنوان پروبیوتیک به کار برده می شود مانند باسیلوس سوبتیلیس سموم سیتوتوکسیک و استفراغی تولید می کند. بنابراین، مطالعاتی دقیق برای این سویههای باکتریایی قبل از استفاده به عنوان پروبیوتیک ایمن توصیه می شود.



۱۲. مراجع

1. Yang G, Chen M, Yu Z, Lu Q, Zhou S (2013) *Bacillus composti* sp. nov. and *Bacillus thermophilus* sp. nov, two thermophilic Fe (III)-reducing bacteria isolated from compost. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 63: 3030-3036.
2. Motta AS, Cladera-Olivera F, Brandelli A (2004) Screening for antimicrobial activity among bacteria isolated from the Amazon basin. Brazilian Journal of Microbiology 35: 307-310.
3. Ichimatsu T, Mizuki E, Nishimura K, Akao T, Saitoh H, Higuchi K et al. (2000) Occurrence of *Bacillus thuringiensis* in fresh water of Japan. Current Microbiology 40: 217-220.
4. Ray AK, Ghosh K, Ringø E (2012) Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: a review. Aquaculture Nutrition 18: 465-492.
5. Ghosh K, Ray AK, Ringø E (2018) Applications of plant ingredients for tropical and sub tropical finfish: possibilities and challenges. Reviews in Aquaculture [Epub ahead of print], doi: 10.1111/raq.12258.
6. Stein T (2005) *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. Molecular Microbiology 56: 845-857.
7. Abriouel H, Farzan CMAP, Omar NB, Galvez A (2011) Diversity and applications of *Bacillus* 1443 bacteriocins. FEMS Microbiol Reviews 35: 201-232.
8. Moriarty DJW (1998) Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. Aquaculture 164: 351-358.
9. Hong HA, Duc LH, Cutting SM (2005) The use of bacterial spore formers as probiotics. FEMSMicrobiology Reviews 29: 813-835.
10. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R (2012) The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. Journal of Cell 148: 1258-1270.
11. Xiong J, Zhu J, Dai W, Dong C, Qiu Q Li C (2017) Integrating gut microbiota immunity and disease-discriminatory taxa to diagnose the initiation and severity of shrimp disease. Environmental Microbiology 19: 1490-1501.
12. Ringø E, Hoseinifar SH, Ghosh K, Doan HV, Beck BR, Song SK (2018) Lactic acid bacteria in finfish-An update. Frontiers in Microbiology 9: 1818
13. Wu DX, Zhao SM, Peng N, Xu C P, Wang J & Liang YX (2016) Effects of a probiotic (*Bacillus subtilis* FY99-01) on the bacterial community structure and composition of shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone) culture water assessed by denaturing gradient gel electrophoresis and high-throughput sequencing. Aquaculture Research 47: 857-86 doi:10.1111/are.12545
14. Reed GB & Spence CM (1929) The intestinal and slime flora of the haddock: a preliminary report. Contribution of Canadian Biology and Fisheries 4: 257-264.



15. Gibbons NE (1933) *The slime and intestinal flora of some marine fishes*. Contribution of Canadian Biology and Fisheries 8: 275-290.
16. Ringø E, Song, SK (2016) *Application of dietary supplements (synbiotics and probiotics in combination with plant products and β -glucans) in aquaculture*. Aquaculture Nutrition 22:2220 4–24.
17. Zokaeifar H, Babaei N, Saad CR, Kamarudin MS, Sijam K, Balcazar JL (2014) *Administration of Bacillus subtilis strains in the rearing water enhances the water quality, growth performance, immune response, and resistance against Vibrio harveyi infection in juvenile white shrimp, Litopenaeus vannamei*. Fish and Shellfish Immunology 36: 68–74.
18. Lutz G, Chavarria M, Arias ML, Mata-Segreda JF (2006) *Microbial degradation of palm (Elaeis guineensis) biodiesel*. Revista Biologia Tropical 54: 59-63.
19. Prieto ML, O'Sullivan L, Tan SP, McLoughlin P, Hughes H, O'Connor PM et al. (2012) *Assessment of the bacteriocinogenic potential of marine bacteria reveals lichenicidin production by seaweed derived Bacillus spp.* Marine Drugs 10: 2280–2299.
20. Zokaeifar H, Balcázar JL, Saad CR, Kamarudin MS, Sijam K, Arshad A, Nejat N (2012) *Effects of Bacillus subtilis on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, Litopenaeus vannamei*. Fish and Shellfish Immunology 33: 683–689.
21. Lee H, Kim HY (2011) *Lantibiotics, class I bacteriocins from the genus Bacillus*. Journal of Microbiology and Biotechnology 21: 229–235.
22. Cotter PD, Hill C, Ross RP (2005) *Bacteriocins: developing innate immunity for food*. Nature Reviews Microbiology 3: 777–788.
23. Riley M (2009) *Bacteriocins, Biology, Ecology, and Evolution*. In: Encyclopedia of Microbiology, Schaechter M, Ed. 3rd ed. pp. 32–44. Academic Press: Oxford, UK.
24. OSullivan L, Ross RP, Hill C (2002) *Potential of bacteriocin producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality*. Biochimie 84: 593–604.
25. Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P, Verstraete W (2000) *Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture*. Microbiology and Molecular Biology Reviews 64: 655–671.
26. Kolndadacha OD, Adikwu IA, Okaeme AN, Atiribom RY, Mohammed A, Musa YM (2011) *The role of probiotics in aquaculture in Nigeria – a review*. Continental Journal of Fisheries Aquatic Science 5: 8–15.
27. Patil R, Jeyasekaran G, Shanmugam SA, Shakila JR (2001) *Control of bacterial pathogens, associated with fish diseases, by antagonistic marine actinomycetes isolated from marine sediments*. Indian Journal of Marine Science 30: 264–267.
28. Kim YK, Park IS, Kim DJ, Nam BH, Kim DG, Jee YJ, et al. (2014) *Identification and characterization of a bacteriocin produced by an isolated Bacillus sp. SW1-1 that exhibits antibacterial activity against fish pathogens*. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry 57: 605–612.



29. Sahoo TK, Jena PK, Patel AK, Seshadri S (2016) *Bacteriocins and their applications for the treatment of bacterial diseases in aquaculture: a review*. *Aquaculture Research* 47: 1013–1027.
30. Nes IF, Yoon S-S, Diep, DB (2007) *Ribosomally synthesized antimicrobial peptides (bacteriocins) in lactic acid bacteria: a review*. *Food Science and Biotechnology* 16: 675–690.
31. Paik HD, Bae SS, Pan JG (1997) *Identification and partial characterization of tochicin, a bacteriocin produced by Bacillus thuringiensis subsp. tochiensis*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 19: 294–298.
32. Dutta D, Ghosh K (2015) *Screening of extracellular enzyme-producing and pathogen inhibitory gut bacteria as putative probiotics in mrigal, Cirrhinus mrigala (Hamilton, 1822)*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 2: 310–318.
33. Chen Y, Li J, Xiao P, Li GY, Yue S, Huang J, et al (2016) *Isolation and characterization of Bacillus spp. M001 for potential application in turbot (Scophthalmus maximus L) against Vibrio anguillarum*. *Aquaculture Nutrition* 22: 374–381.
34. Sumathi C, Nandhini A, Padmanaban J (2017) *Antagonistic activity of probiotic Bacillus megaterium against Streptococcus mutans*. *International Journal of Pharmacological and Biological Sciences* 8: 270–274.
35. Gautam N, Sharma N (2009) *Bacteriocin: Safest approach to preserve food products* *Indian Journal of Microbiology* 49(3):204-11, DOI: 10.1007/s12088-009-0048-3
36. Nath S, Chowdhury S, Dora KC (2015) *Application of Bacillus sp. as a biopreservative for food preservation*. *International Journal of Engineering Research and Applications* 5(4), (Part -2): 85-95.
37. Sirtori LR, Cladera-Olivera F, Lorenzini DM, Tsai SM, Brandelli A (2006) *Purification and partial characterization of an antimicrobial peptide produced by Bacillus sp. strain P45, a bacterium from the Amazon basin fish Piaractus mesopotamicus*. *Journal of General and Applied Microbiology* 52: 357–363
38. Giri SS, Sukumaran V, Sen SS, Vinumonia J, Nazeema-Banu B, Jena PK (2011) *Antagonistic activity of cellular components of potential probiotic bacteria, isolated from the gut of Labeo rohita, against Aeromonas hydrophila*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 214–222.
39. Kumar V, Roy S, Meena DK, Sarkar UK (2016) *Application of probiotics in shrimp aquaculture: Importance, mechanisms of action, and methods of administration*. *Reviews in Fishery Science and Aquaculture* 24: 342–368.
40. Focht DD, Verstraete W (1977) *Biochemical ecology of nitrification and dinitrification*. *Advances in Microbial Ecology*, 1; 135-214.
41. Hoseinifar SH, Sun Y, Wang A, Zhou Z (2018) *Probiotics as means of diseases control in aquaculture, A Review of current knowledge and future perspectives*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2429.
42. Dawood MAO, Koshio S, Esteban MÁ (2017) *Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review*. *Reviews in Aquaculture*, n/a-n/a.



43. Fečkaninová A, Koščová J, Mudroňová D, Popelka P, Toropilová J (2017) *The use of probiotic bacteria against Aeromonas infections in salmonid aquaculture*. Aquaculture, 469, 1-8.
44. Dawood MAO, Koshio S (2016) *Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: A review*. Aquaculture, 454, 243-251
45. Zhang Q, Yu H, Tong T, Tong W, Dong L, Xu M, Wang Z (2014) *Dietary supplementation of Bacillus subtilis and fructooligosaccharide enhance the growth, non-specific immunity of juvenile ovate pompano, Trachinotus ovatus and its disease resistance against Vibrio vulnificus*. Fish & shellfish immunology, 38, 7-14.
46. Anadón A, Martínez-Larrañaga MR & Martínez MA (2006) *Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment*. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 45(1): 91–95.