دانشکده شیلات و محیط زیست

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی‌ارشد در رشته
تکثیر و پرورش

تاثیر پروبیوتیک جنس باسیلوس (*B.licheniformis,Bacillus subtilis*) بر تراکم، فاکتورهای رشد در تراکم‌های مختلف و ترکیبات لاشه میگوی سفید اقیانوس آرام (*Litopenaeus vannamei*)

پژوهش و نگارش:
حمید رئیسی

استاد راهنما:
دکتر ولی‌اله جعفری

اساتید مشاور:
دکتر سعید ضیائی‌نژاد
مهندس علی اکبر پاسندی

پاییز ۱۳۹۲

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه‌های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود؛ بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

۱- قبل از چاپ پایان نامه خود، مراتب را قبلا به طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.
۲- قبل از چاپ پایان نامه در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.
۳- انتشار نتایج پایان نامه باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **حمید رئیسی** دانشجوی رشته **تکثیر و پرورش** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی و امضاء

تقدیم به

مادر و همسر عزیزم

و به تمام آزاد مردانی که نیک می اندیشند و عقل و منطق را پیشه خود نموده و جز رضای الهی و پیشرفت و سعادت جامعه، هدفی ندارند.

دانشمندان، بزرگان، و جوانمردانی که جان و مال خود را در حفظ و اعتلای این مرز و بوم فدا نموده و می نمایند.

تشکر و قدردانی

از استاد گرامیم جناب آقای / دکتر ولی اله جعفری بسیار سپاسگزارم چرا که بدون راهنمایی های ایشان تامین این پایان نامه بسیار مشکل می نمود.

از اساتید مشاور / جناب آقای مهندس پاسندی و به ویژه / جناب آقای دکتر سعید ضیایی نژاد به دلیل یاری ها و راهنمایی های بی چشمداشت ایشان که بسیاری از سختی ها را برایم آسان تر نمودند.

و در پایان از کلیه کارمندان پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران جهت همکاری بی دریغ ایشان جهت پیشبرد این پایان نامه سپاسگزارم.

چکیده

پروبیوتیک‌ها به عنوان عامل مهمی در توسعه آبزی پروری، افزایش میزان تولید و کاهش بیماری‌ها در نظر گرفته می‌شود. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تاثیر استفاده از باکتری‌های ***Bacillus subtis*** و ***Bacillus licheniformis*** به همراه تراکم، بر فاکتورهای رشد و قابلیت هضم میگوی پاسفید غربی (***Litopenaeus vannamei***) می‌باشد. در این تحقیق میگوها پس از ذخیره سازی با دو تیمار ۲۵۰ و ۳۰۰ قطعه در هر متر مربع هرکدام به وسیله دو غلظت پروبیوتیکی ٤×١٠^{١٠} cfu/g food و $١٠^{١٠}$food cfu/g) به مدت ۸ هفته مورد تیمار قرار گرفتند. در انتهای آزمایش، شاخص‌های رشد، کیفیت لاشه، قابلیت هضم و تعداد باکتری کل موجود در دستگاه گوارش سنجش شدند. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد رشد در تیمارهای T_2 (تراکم ۳۰۰ قطعه در متر مربع، پروبیوتیک ٤×١٠^{١٠} CFU/g) و T_4 (تراکم ۲۵۰ قطعه در متر مربع، پروبیوتیک ٤×١٠^{١٠} CFU/g) نسبت به گروه شاهد C_1 (۳۰۰ قطعه در متر مربع با غلظت پروبیوتیک صفر) و C_2 (۲۵۰ قطعه در متر مربع با غلظت پروبیوتیک صفر) دارای اختلاف معناداری بود ($p<0.05$). در تیمارهای T_1 (تراکم ۳۰۰ قطعه در متر مربع، پروبیوتیک $١٠^{١٠}$ CFU/g) و T_3 (تراکم ۲۵۰ قطعه در متر مربع، پروبیوتیک $١٠^{١٠}$ CFU/g) رابطه معنی داری با گروه شاهد و تیمارهای T_2 و T_4 نشان نداد. تاثیر تراکم بر شاخص‌های رشد عدم اختلاف معناداری را بین تیمارهای مختلف بیان کرد ($P>0.05$). تاثیر پروبیوتیک مورد نظر بر قابلیت هضم میگوی وانامی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد اختلاف معنادار بین گره شاهد و تیمارهای پروبیوتیکی بود ($p<0.05$). تعداد کل باکتری‌های موجود در دستگاه گوارش در تیمارهای که از غلظت ٤×١٠^{١٠} cfu/g و $١٠^{١٠}$cfu/g استفاده شده بود، بترتیب؛ $١/٨\times١٠^{٨}\pm٠$ cfu/g و $١.٨\times١٠^{٨}\pm٠.٥$cfu/g نشان دهنده وجود اختلاف معنادار بین این تیمارها بود ($p<0.05$). بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش، استفاده از غلظت ٤×١٠^{١٠} cfu/g پروبیوتیک‌های ***B. subtilis*** و ***B. licheniformis*** سبب بهبود شاخص‌های رشد، قابلیت هضم، ترکیبات لاشه و فلور باکتریایی دستگاه گوارش میگوی وانامی شد. همچنین مشخص شد تراکم بر شاخص رشد تاثیری نداشت. بنابراین پیشنهاد می شود که جهت افزایش میزان تولید میگوی وانامی از غلظت ٤×١٠^{١٠} cfu/g استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، تراکم، شاخص‌ها رشد، فلور باکتریایی، دستگاه گوارش، میگو

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱- مقدمه ۲

۱-۱-۱- کلیات ۲

۱-۱-۲- کلیاتی پیرامون پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها ۳

۱-۱-۳- تعریف و تاریخچه پروبیوتیک‌ها ٤

۱-۱-٤- مکانیزم عمل پروبیوتیک‌ها ٦

۱-۱-۵- خصوصیات فیزیولوژیکی پروبیوتیک‌ها ۷

۱-۲- کلیات پیرامون باسیلوس‌ها ۸

۱-۳- تاریخچه پرورش میگو ۹

۱-۳-۱- کلیات پیرامون پرورش متراکم ۱۱

۱-۳-۲- پرورش فوق متراکم ۱٤

۱-٤- تاریخچه استفاده از میگوی وانامی ۱٤

۱-۵- کیفیت آب ۱۵

۱-٦- کلیات پیرامون بررسی قابلیت هضم ۱٦

۱-۷- فرضیه‌ها ۱۸

۱-۸- اهداف ۱۸

فصل دوم: کلیات و بررسی منابع

۲-۱- بررسی منابع ۲۰

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱- مواد مصرفی ۲٦

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۲- مواد غیر مصرفی شامل ۲۶
۳-۳- روش‌ها ۲۶
۳-۳-۱- محل انجام تحقیق ۲۶
۳-۳-۲- تانک پرورش میگو ۲۶
۳-۳-۳- تهیه لارو میگو ۲۷
۳-۳-٤- نحو ساخت و آماده سازی جیره غذایی ۲۷
۳-۳-۵- بررسی کیفیت میگو ۲۹
۳-٤- فعالیت آزمایشگاهی ۲۹
۳-٤-۱- اندازه‌گیری ترکیبات لاشه ۲۹
۳-٤-۲- روش اندازه‌گیری پروتئین ۲۹
۳-٤-۳- دستگاه اندازه‌گیری چربی خام ۳۰
۳-٤-۳-۱- روش بررسی چربی موجود در لاشه میگو ۳۰
۳-٤-٤- دستگاه اندازه‌گیری خاکستر ۳۱
۳-۵- پروبیوتیک ۳۱
۳-٦- شمارش باکتریای ۳۲
۳-۷- محیط کشت ۳۳
۳-۷-۱- تعریف محیط کشت ۳۳
۳-۷-۲- انواع محیط کشت ۳٤
۳-۷-۲-۱- محیط‌های کشت انتخابی و محیط کشت افتراقی ۳٤
۲-۷-۲-۲- محیط غنی کننده ۳٤
۳-۷-۲-۳- محیط کشت کامل ۳٤
۳-۷-۳- انواع کشت ۳۵
۳-۷-۳-۱- کشت چهار مرحله‌ای ۳۵

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۷-۳-۲- کشت چمنی ۳۵
۳-۷-۳-۳- کشت خطی ۳۶
۳-۷-۳-٤- کشت چند بخشی ۳۷
۳-۷-۳-۵- کشت عمقی ۳۷
۳-۸- تجزیه و تحلیل آماری ۳۸

فصل چهارم: نتایج

٤-۱ اثرات پروبیوتیک باسیلوس بر شاخص رشد ٤۰
٤-۱-۱- بازماندگی ٤۰
٤-۱-۲- تولید کل ٤۲
٤-۱-۳- طول کل و طول کاراپاس ٤۳
٤-۱-٤- تولید نهایی ٤٤
٤-۱-۵- نرخ رشد ویژه ٤۵
٤-۱-٦- ضریب تبدیل غذائی ٤٦
٤-۲- بررسی ترکیبات لاشه ٤۷
٤-۲-۱- ماده خشک ٤۸
٤-۲-۲- پروتئین ٤۸
٤-۲-۳- چربی ٤۹
٤-۲-٤- خاکستر ۵۰
٤-۳- قابلیت هضم ۵۲
٤-۳-۱- ماده خشک ۵۲
٤-۳-۲- پروتئین ۵۳
٤-۳-۳- چربی ۵٤

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

٤-٣-٤- خاکستر ٥٥
٤-٤- اثرات پروبیوتیک بر تعداد کل باکتری‌های روده میگو ٥٦

فصل پنجم: بحث

٥-١- اهمیت استفاده از پروبیوتیک‌ها ٦٠
٥-٢- اهمیت استفاده از پروبیوتیک و تراکم روی شاخص‌های رشد ٦١
٥-٣- بررسی ترکیبات لاشه ٦٣
٥-٤- بررسی قابلیت هضم ٦٥
٥-٥- نتیجه‌گیری کلی ٦٨
پیشنهادات ٦٩
پیشنهادات پژوهشی ٦٩

فهرست منابع ٧٢

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱. خلاصه‌ای از تیمارهای به کار رفته ۲۷
جدول ۳-۲. تجزیه تقریبی غذای تجاری میگوی وانامی برحسب درصد ماده خشک ۲۸
جدول ۳-۳. روش شمارش فلور باکتریایی موجود در دستگاه گوارش ۳۳
جدول ٤-۱. تاثیر سطوح متفاوت تراکم و پروبیوتیک باسیلوس را بر فاکتورهای رشد ٤۰
جدول ٤-۲. تجریه تقریبی لاشه میگو در تیمارهای مختلف در انتهای دوره ٤۷
جدول ٤-۳. مقایسه میانگین ماده خشک، چربی، پروتئین و خاکستر قابلیت هضم نسبت به سطوح مختلف باسیلوس و تراکم متفاوت میگوی وانامی (*Litppenaeus vannamei*) ۵۲
جدول ٤-٤. میانگین غلظت پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش ۵۷

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

تصویر ۳-۱. شماتیکی از محیط کشت چهار مرحله‌ای ۳۵
تصویر ۳-۲. شماتیکی از کشت چمن در محیط کشت ۳۶
تصویر ۳-۳. نمایی از کشت خطی باکتریای در محیط کشت ۳۶
تصویر ۳-٤. نمای از محیط کشت چند بخشی ۳۷
تصویر ۳-۵. نمای از محیط کشت سوزنی ۳۸
شکل ٤-۱. میانگین درصد بازماندگی تیمارهای با تراکم متفاوت و سطوح پروبیوتیک انتهای دوره ٤۱
شکل ٤-۲. میزان تولید کل در تیمارهای مختلف در انتهای دوره ٤۲
شکل ٤-۳. میزان طول کل میگو در تیمارهای گوناگون تراکم و غلظت پروبیوتیکی ٤٤
شکل ٤-٤. میزان طول کل کاراپاس در تیمارهای مختلف ٤٤
شکل ٤-۵. وزن نهائی در تیمارهای مختلف ٤۵
شکل ٤-٦. نرخ رشد ویژه میگو را در تیمارهای گوناگون در انتهای دوره ٤٦
شکل ٤-۷. ضریب تبدیل غذائی در تیمارهای گوناگون در انتهای دوره ٤۷
شکل ٤-۸. مقدار ماده خشک موجود در تیمارهای مختلف در انتهای دوره ٤۸
شکل ٤-۹. مقدار پروتئین موجود در بدن میگو تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک باسیلوسی و تراکم متفاوت ٤۹
شکل ٤-۱۰. مقدار چربی مختلف در بدن میگو در تیمارهای مختلف ۵۰
شکل ٤-۱۱. میزان خاکستر موجود در لاشه میگو در تیمارهای متفاوت انتهایی دوره ۵۱
شکل ٤-۱۲. قابلیت هضم ماده خشک در تیمارها گوناگون انتهایی دوره ۵۳
شکل ٤-۱۳. قابلیت هضم پروتئین در تیمارها گوناگون انتهای دوره ۵٤
شکل ٤-۱٤. قابلیت هضم چربی در تیمارهای گوناگون در انتهای دوره ۵٤
شکل ٤-۱۵. قابلیت هضم خاکستر را در میگوی وانامی تغذیه شده را در تیمارهای گوناگون در انتهای دوره ۵٦
شکل ٤-۱٦. میزان باکتری کل در دستگاه گوارش ۵۷

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

۱-۱-۱- کلیات

نقش آبزی پروری در پاسخ به کمبود تغذیه جهانی در سال‌های اخیر نمود بیشتری یافته است. بر این اساس آبزی پروری و تکثیر پرورش آبزیان به عنوان یکی از نظام‌های تولید غذا در جهان به سرعت در حال رشد است و حجم عظیمی از تولیدات کنونی از سوی کشورهای در حال توسعه صورت می‌پذیرد. آبزی پروری در کنار رشد قابل توجه‌ای که در سال‌های اخیر داشته همواره با مشکلاتی دست و پنجه نرم کرده است، که می‌توان به کنترل کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و غیره اشاره نمود. یکی از عواملی که اقتصاد این صنعت را در بخش‌های مختلف با مشکل روبرو کرده شیوع بیماری می‌باشد. به طوری که بیماری به عنوان عامل مهم محدود کننده توسعه بخش پرورش میگو به حساب می‌آید (لاین[1]، ۱۹۹۵؛ ساب آسینگ، ۱۹۹۷). در خصوص سیستم‌های متراکم نیز بیماری‌های ویروسی معضل مهمی جهت اختلال این نوع سیستم‌ها می‌باشد (لازون[2] و همکاران، ۲۰۰۸). بیماری‌های باکتریائی به عنوان اصلی‌ترین عامل مرگ و میر در مراکز تکثیر می‌باشد (گومزگیل[3] و همکاران، ۲۰۰۰). برای رفع این مشکلات همواره راه‌حل‌هایی نیز ارائه شده اما موفقیت چندانی نداشته‌اند. که از این راه‌حل‌ها استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد، که در مراکز تکثیر به طور گسترده استفاده می‌شود (لازون و همکاران، ۲۰۰۸). برای رفع این مشکلات همواره راه‌حل‌هایی نیز ارائه شده است که موفقیت‌های چندانی نداشته است و گاهی حتی خود بر مشکلات افزوده‌اند، از جمله در بحث کنترل بیماری‌ها، از داروهای آنتی بیوتیکی استفاده شده است و هم اکنون در مراکز آبزی پروری برای مبارزه با بیماری‌های باکتریائی، به طور گسترده‌ای از آنتی بیوتیک‌ها استفاده می‌شود (لازون و همکاران، ۲۰۰۸). که پس از سال‌ها خود این داروها مشکلات عمده‌ای، از جمله مقاوم شدن عوامل بیماری زا، مسائل زیست محیطی و غیره را به وجود آورده‌اند. به همین دلیل در بسیاری از کشورها استفاده از آنتی بیوتیک‌های خاص همانند کلرامفنیکل[4] ممنوع گردیده است (روبرت و همکاران ۱۹۹۵). شرایط مشابه‌ای نیز در مورد استفاده از مواد شیمیایی و داروئی جهت کنترل کیفیت آب در

[1] Lin
[2] Lazon
[3] Gomez
[4] Cholramphonicle

آبزی پروری و اثرات مخرب زیست محیطی آن‌ها مشاهده گردید. در سال‌های اخیر استفاده از پروبیوتیک‌ها[1] به عنوان جایگزینی برای روش‌های قبلی مطرح گردیده است که به نظر می‌رسد می‌تواند می‌تواند بسیاری از مشکلات را مرتفع سازد. استفاده از پروبیوتیک‌ها[2] به عنوان روشی برای بالا بردن کیفیت غذایی و افزایش هضم پذیری مورد استفاده قرار می‌گیرد تا بتواند کمبودهای تغذیه را برطرف کرده و سبب افزایش رشد و بازماندگی لارو آبزیان شود. کاربرد پروبیوتیک‌ها در آبزی پروری سابقه چندانی نداشته و تقریبا به سه دهه گذشته بر می‌گردد، در حالی که بیشترین سابقه بکارگیری پروبیوتیک ها در حیوانات خشکی‌زی و اهلی بوده است (گاتسوپ، ۱۹۹۹).

۱-۱-۲- کلیاتی پیرامون پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها

واژه پروبیوتیک واژه یونانی است که به معنای تحت الفظی آن "برای زندگی" می‌باشد و از ترکیب کلمه pro به معنی "برای" و کلمه bio به معنای "زندگی" سرچشمه گرفته است (زیوکوی[2]، ۱۹۹۹)، و به معنای فارسی آن پروبیوتیک نامیده‌اند.این واژه نخستین بار توسط لیلی[3] و استیل ول (۱۹٦۵) به کار گرفته شد (افشارمازندران و رجب، ۱۳۸۱). وسپس (پارکر[4]،۱۹۷٤)، تعریفی را از پروبیوتیک‌ها ارائه کرد. ارگانیزم‌هایی هستند که در تعادل میکروبی روده تاثیر می‌گذارند (فولر[5]، ۱۹۸۹)، تعریف جامع‌تری را ارائه نمود که مطابق این تعریف، باکتری‌های پروبیوتیکی یا زیست یار، به عنوان مکمل‌های غذایی میکروبی زنده‌ای می‌باشند که تاثیرات سودمندی را بر جانور میزبان از طریق بهبود تغییرات میکروبی در روده میزبان ایفا می‌کنند. محدوده وسیعی از میکروارگانیزم‌ها مثل: مخمرها (ساکارومایسیس و غیره)، به عنوان پروبیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند (ایریانتو و آستین، ۲۰۰۲). متشکل از کلمه مخمر از یک واژه انگلیسی قدیم به نام gist و از واژه آلمانی به نام Gischt است که اشاره به تحقیر می‌کنند. پربیوتیک‌ها نیز به عنوان مواد غذایی غیر قابل هضم تعریف می‌شوند که تاثیرات سودمندی بر روی میزبان از طریق تحریک رشد و فعالیت باکتری‌های خاص می‌گذارند در

[1] Probiotics
[2] Zikoy
[3] Llily
[4] Parker
[5] Fuller

نهایت منجر به افزایش و تحریک باکتری‌های مفید در داخل دستگاه گوارش می‌شوند (گیبسون[1] و روبرفروید، ۱۹۹۵).

پس از استفاده از پروبیوتیک‌ها در آبزی پروری، مطالعات بسیاری در زمینه اثرات این مواد بر رشد، بازماندگی، ایمنی و فلور باکتریایی روده گونه‌های مختلف ماهیان، سخت پوستان و صدف ها انجام شده است. و همچنین بعد از معرفی ایده استفاده از پروبیوتیک‌ها مطالعات زیادی در کاربرد این مواد در آبزی پروری انجام شده است اما بسیاری از جنبه‌های استفاده از این مواد در آبزی پروری ناشناخته مانده است در این بخش به مطالعات انجام شده در این خصوص می‌پردازیم:

۱-۱-۳- تعریف و تاریخچه پروبیوتیک‌ها

"پروبیوتیک ماده‌ی غیر قابل هضمی است که از طریق تحریک رشد و فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های موجود در روده اثرات سودمندی برای میزبان داشته و می‌تواند سلامتی میزبان را بهبود بخشد."

سویه باکتری‌های پروبیوتیکی که برای اولین بار استفاده شدند، در حیوانات خشکی‌زی به کار رفتند، و همگی منشا خاکی داشتند و وابسته به زمین بودند، این سویه‌ها بومی لوله گوارشی این جانوران نبوده ولی قادر به انجام برخی فعالیت‌های بیولوژیکی در خلال انتقال از مسیرهای مختلف دستگاه گوارش با شرایط محیطی متفاوت می‌باشند (گور نایر چاتو[2] و همکاران، ۱۹۹٤). بر اساس این تعریف هر ماده غذایی که به روده می‌رسد مثل کربوهیدرات‌های غیر قابل هضم، بعضی از پپتیدها و نیز برخی از چربی‌ها می‌توانند کاندیدایی برای پروبیوتیک باشند (گیبسون[3]، ۱۹۹۹). اما گونه‌هایی که به عنوان پروبیوتیک انتخاب می‌شوند باید دارای مشخصه و معیارهای خاصی باشند.

سرمنشأ مواد فرآوری کننده تولیدات لبنی به ابتدای تمدن گرایی بشر برمی‌گردد که در کتاب‌های مقدس انجیل و کتاب بودائیان به آنها اشاره گردیده است. بسیاری از این مواد لبنی امروزه به طور وسیع استفاده می‌شوند و استفاده آنها در زمان‌های دور قبل از آنکه وجود باکتری‌ها شناسایی گردند مورد استفاده واقع شده بودند.

---

[1] Gibson
[2] Gornairchato
[3] Gibson

در آغاز قرن بیستم عملکرد عمده فلور دستگاه گوارش به طور کامل ناشناخته بود. ایلیا الیچ متچینکوف برنده جایزه نوبل پزشکی در سال ۱۹۰۸ در انستیتو پاستور سلامت و طول عمر انسان را به هضم پروبیوتیک‌های داخل دستگاه گوارش نسبت داد (مچینکوف[1]، ۱۹۱۰؛ و سول، ۲۰۰٤). او اعتقاد دارد که ناهماهنگی‌هایی است که از پستانداران پیشین به ارث رسیده است که این عوامل عبارتند از موی بدن، معده، ضمایم کرم مانند و روده بزرگ. همچنین در سال ۱۹۰۷ نشان داد که باکتری‌هایی که در ماست موجود هستند مانند لاکتوباسیل‌ها، استرپتوکوکوس‌ها و غیره عمل فسادکنندگی فلور روده را سرکوب می‌کند و مصرف این باکتری‌های پروبیوتیکی سبب حفظ سلامتی انسان می‌شوند.

تیزر و همکاران (۱۹۰٦) با کشف بفیدو باکتریوم (*Bphidobacterium*) در شرایط تغذیه‌ای نوزادان پرده از یک واقعیت در خصوص تاثیر باکتری‌ها روی حفظ سلامت انسان برداشت. او گزارش داد که تشکیل فلور باکتریایی در نوزادانی که از شیر استفاده می‌کنند، مانع از عفونت روده‌ای در آنها می‌گردد. در دهه ۱۹۲۰ بعضی از محققین دریافتند، که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*Lactobacillus acidophilus*) موجود در شیر دارای تاثیر دارویی بوده و روی هضم تاثیر مناسبی می‌گذارد. چپلین[2] (۱۹۲۲)، شاه (۲۰۰۷) استخراج و تهیه پروبیوتیک‌ها برای اولین بار در سال ۱۹۳۰ توسط یکی از دانشمندان ژاپنی انجام شد که این عمل به منظور استخراج پروبیوتیک‌ها از شیر ترش شده بود که این اولین باکتری استخراجی شرکت هون شاه یاکولتا بود. پروبیوتیک‌ها، معمولاً به صورت تجاری به منظور برای انسان و هم برای حیوان تهیه می‌گردند.

پروبیوتیک‌هایی که برای انسان استفاده می‌شوند به دلیل بعضی محدودیت‌ها معمولاً به اشکالات گوناگونی مواجهه هستند (انیتا[3]، ۲۰۱۳).

استفاده از پروبیوتیک‌ها در حیوانات به منظور جلوگیری از عفونت‌های دستگاه گوارش فرایند حفاظتی، و جلوگیری از افزایش مواد ضد هضم می‌باشد (هونگو[4]، ۲۰۰۵ و لیو[5]، ۲۰۱۲).

[1] Machincof
[2] Chaplin
[3] Anita
[4] Hongo
[5] Liu

فعالیت تغذیه‌ای پروبیوتیک‌ها از طریق تولید مواد تخمیری موسوم به خودشان می‌باشد، که مانع از رشد باکتری‌های مضر و سبب توسعه سیستم ایمنی می‌شوند. در نهایت عملکرد محافظتی که برای پروبیوتیک‌ها می‌توان برشمرد فعالیت ضد پاتوژنی و تاثیراتی که به عنوان یک سد و یا مانع بر علیه آنها ایجاد می‌کند می‌باشد (آقای دل پیانو، ٢٠٠٦). امروزه فواید و منافعی که باکتری‌های پروبیوتیکی به دنبال دارند به خوبی شناخته شده نیست. در میان پروبیوتیک‌ها بعضی از آنها مربوط به دستگاه گوارش بوده و بعضی از آنها مانند *stereptococcus*، *thermofilus* و *Lactobasilus delborky* به عنوان استارتـر ماست بوده و به عنوان باکتری‌های مربوط به دستگاه گوارش به حساب نمی‌آیند. بنابراین برای اینکه ماست به عنوان تولید کننده پروبیوتیک‌ها در نظر گرفته شوند، *Lactobacillus acidofillus*، *Bafidobacterium* و *Lactobacillus casaei* به عنوان رژیم کمکی ترکیب می‌شوند. بنابراین کار مناسب این است که جهت تولید پروبیوتیک مناسب آن باکتری هم به عنوان میکرو ارگانیسم استارتر، و هم به عنوان یکی از پروبیوتیک باکتریایی مطرح گردد (شاه، ٢٠٠٧).

١-١-٤- مکانیزم عمل پروبیوتیک‌ها

پروبیوتیک‌ها معمولاً به شرایط محیطی مانند اسیدیته، اکسیژن و گرما حساسند قبل از اینکه پروبیوتیک‌ها تاثیر خود را بر سلامت انسان‌ها بگذارند چندین معیار مربوط به امنیت و پایداری (از جمله فعالیت و قابلیت زیست پذیری در پروبیوتیک‌ها) مقاومت در برابر pH پایین، شرایط کلون پذیری و بقا در شرایط آزمایشگاهی) و جنبه‌های فیزیولوژیکی و عملکردی (چسبیدن به اپتیلیال روده، بافت، شرایط مقابله با پاتوژن‌ها، فعالیت ضد باکتریایی، تحریک پذیری، سرکوب دستگاه ایمنی، تحریک‌پذیری انتخابی باکتری‌های مفید و تاثیرات کلینیکی در بیمار می‌باشد) (آقای کارلوس ریکاردو، ٢٠١٠). این معیارها شامل موارد ذیل است (کولیدا، ٢٠٠٢؛ مایوس، ٢٠٠٥):

هیدرولیز یا جذب نشدن در بخش‌های فوقانی دستگاه گوارش

تخمیر انتخابی به وسیله باکتری‌های بالقوه مفید روده

تغییر ترکیب میکرو فلور روده ای به سمت ترکیبی سالم‌تر

دارای اثرات سودمند بر سلامتی میزبان

دسترسی به پروبیوتیک‌ها یک پارامتر کلیدی جهت توسعه آنها به عنوان غذا می‌باشد. چندین فاکتور روی دسترسی پروبیوتیک‌ها تا رسیدن به محل مورد نظر بستگی دارد که عبارتند از: شرایط نگهداری مناسب، شرایط هیدرو دینامیکی مناسب، شرایط فیزیکی مناسب، عدم سمی بودن محیط پروبیوتیک، شرایط اکسیژنی مناسب و دمای مناسب، رطوبت مناسب، ممانعت از استرس‌های اکسیژنی، شرایط اسیدیته و... می‌باشند (لاکروئیس، ۲۰۰۷) که با رعایت این موارد می‌توان تاثیر پروبیوتیک‌ها را در رسیدن به محل مورد نظر تضمین کرد.

مکانیسمی که برای تاثیرات بیولوژیکی پروبیوتیک‌ها بیان شده هنوز به طور کامل قابل فهم نیست اما خصوصیاتی مانند مقاومت در برابر کوچ و یا فرایند رقابتی آن با دیگر باکتری‌ها به عنوان عملکرد عمومی آنها توصیف می‌گردد. مقاومت در برابر کلون سازی و یا حذف رقابتی به عنوان یک پدیده‌ای است که از طریق فلور باکتریایی غیرهوازی[1] پتانسیل رشد پاتوژن‌ها[2] را محدود می‌کند توصیف می‌گردد.

اوریشلیگر گزارش داد که مکانیسم عمل پروبیوتیک‌ها به سه شکل طبقه‌بندی می‌شود:

پروبیوتیک ممکن است قدرت دفاعی آغازی و همچنین سیستم ایمنی را تعدیل کند. این عمل معمولاً جهت محافظت و درمان بیماری‌های عفونی اگر چه مهم می‌باشد اما برای درمان التهاب دستگاه گوارشی لازم و ضروری است. علاوه بر این عمل پروبیوتیک‌ها می‌توانند جهت از بین بردن سلول‌های نئوپلاستیکی به میزان قابل توجهی مفید باشند.

همچنین پروبیوتیک می‌تواند روی میکروارگانیسم‌های دیگر غذا و پاتوژن‌ها به صورت مستقیم و یا غیرمستقیم تاثیر بگذارد و از بسیاری جهات برای محافظت و درمان عفونت‌ها و بازگرداندن تعادل باکتریایی دستگاه گوارش مهم هستند.

۱-۱-۵- خصوصیات فیزیولوژیکی پروبیوتیک‌ها

پروبیوتیک‌ها باکتری‌های گرم مثبت هستند که هر کدام از نژادها به صورت باکتری زنده و یا اسپور (در شرایط نامساعد) وجود دارند، که از طریق جایگزینی در پوشش خارجی روده مانع آسیب به بافت‌ها و تشکیل سلول‌های سرطانی می‌گردد. این میکروارگانیسم با تولید مواد آنتی باکتریایی بر علیه

[1] Anaerobic
[2] Pathogin

باکتری‌های گرم مثبت مانند؛ *Staphilococcus areus*، *anterococcus fasium* و *clasterdium* ترشح می‌شود (آنیتا[1]، ۲۰۱۳). خصوصیات دیگری که می‌توان برای پروبیوتیک‌ها اشاره کرد، تولید اسپور می‌باشد که به صورت تجاری تولید و به عنوان پروبیوتیک استفاده می‌شوند. یکی از مزیت‌هایی که می‌توان برای آنها برشمرد این است که این پروبیوتیک‌ها نسبت به آنهایی که در آزمایشگاه تولید می‌شوند توانایی حفظ و نگهداری در شرایط خشک و حتی فرایند پختن را دارابوده و به خوبی به حیات خود ادامه می‌دهند. سه خصوصیت فیزیولوژیکی در خصوص اسپورهای پروبیوتیک‌ها وجود دارد.

هائو[2] و همکاران جز اولین محققانی بودند که هضم مواد غذایی را در موجودات را بررسی کرده و دریافتند که بیشتر اسپورهای باکتری باسیلوس بعد از عمل هضم، در دستگاه گوارش به طور کامل شکل می‌گیرند.

بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی بعضی از پروبیوتیک‌ها قبل از استفاده به منظور شناسایی توانایی و ممانعت آنها جهت سرکوب پاتوژن‌ها ضروری می‌باشد و انتخاب یک پروبیوتیک خوب نقش حیاتی را در این خصوص بازی می‌کند (لین[3]، ۲۰۱۱). پروبیوتیک باسیلوس یکی از این گونه‌ها می‌باشد که دارای خصوصیات متابولیکی و تیره‌ای می‌باشد که این خصوصیات عبارتند از متابولیسم کربوهیدرات‌ها با منابع مختلف حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک و مقاومت در برابر pH و غلظت‌های بالای اسموتیکی مانند سدیم کلرید و غیره می‌باشد (رنگپیپات[4]،۲۰۰۰).

۱-۲- کلیات پیرامون باسیلوس‌ها

باکتری‌هایی با سایز بزرگ گرم مثبت و با انتهای زاویه دار مکعبی می‌باشند که در شرایط نامناسب تولید اسپور می‌کنند که این اسپورها دارای توانایی بسیار زیادی در شرایط نامساعد محیطی می‌باشند که حتی توانایی مقاومت در برابر مواد ضدعفونی کننده را نیز دارا هستند. این باکتری‌ها هوازی بوده و دمای مناسب برای رشد آنها حدود ۳۷ درجه سلسیوس می‌باشند. این باکتری‌ها از طرفی دارای توانایی

[1] Anish
[2] Hauo
[3] Lin
[4] Rengpipat