مجله شیلات
سال دوم، شماره دوم، تابستان ۸۷

تأثیر پربیوتیک (prebiotic) اینولین (inulin) بر شاخص تولید و تراکم باکتریایی دستگاه گوارش فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی

رضا اکرمی[۱]، عبدالمجید حاجی‌مرادلو[۲]، عباس متین‌فر[۳]،
عبدالمحمد عابدیان‌کناری[۴] و رئوف مازندانی[۵]

[۱]دانش آموخته واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، [۲] گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۳]مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، [۴] گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور،
[۵]گروه میکروبیولوژی دانشکده علوم، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
Email :akrami202@yahoo.com

چکیده

استفاده از پربیوتیک‌ها به‌عنوان مواد غذائی غیر قابل هضم که به‌طور مؤثری سلامتی میزبان را از طریق تحریک و یا محدود کردن رشد باکتری‌های موجود در روده تحت تاثیر قرار می‌دهند، ایده جدیدی در آبزی‌پروری می‌باشد. این تحقیق با هدف بررسی عملکرد اینولین به‌عنوان پربیوتیک در سه سطح ۱، ۲ و ۳ درصد که جایگزین سلولز جیره شاهد شده بودند بر شاخص تولید و تراکم باکتریایی دستگاه گوارش فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی در حوضچه‌های فایبرگلاس ۸۰۰ لیتری در شرایط پرورشی یکسان انجام پذیرفت. بچه ماهیان با میانگین وزنی ۰/۳۸±۱۶/۱٤ گرم و با تراکم ۵۰ عدد (با میانگین بیوماس اولیه ۸۲۱/۵۸ گرم به ازای هر تیمار) به مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. نتایج نشان داد شاخص تولید در تیمارهایی که از سطوح متفاوت پربیوتیک اینولین تغذیه کرده بودند در مقایسه با ماهیان گروه شاهد کاهش یافت و اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده گردید ($P<0/05$). در هفته هشتم پرورش با افزایش سطح اینولین در جیره، روند کاهشی در شمارش کلی باکتریایی، شمارش کلی مخمر و قارچ و تعداد کل لاکتوباسیلوس های روده مشاهده گردید. بیشترین تراکم لاکتوباسیلوس‌ها در سطح ۱ درصد اینولین در جیره غذایی مشاهده گردید ولی تفاوت معنی‌داری در نرخ بازماندگی ماهیان تیمارهای مختلف حاصل نشد. نتایج این مطالعه نشان داد که سطوح متفاوت پربیوتیک اینولین قابلیت تأثیرگذاری بالایی بر کارایی تولید در فیل ماهی پرورشی ندارند و این نوع پربیوتیک نمی‌تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهی باشد.

واژه‌های کلیدی: اینولین، پربیوتیک، تراکم باکتریایی، تولید، فیل ماهی (*Huso huso*)

مقدمه

توسعه روزافزون آبزی‌پروری در بسیاری از مناطق دنیا منجر به افزایش درخواست و استفاده از مواد شیمیایی جدید شده است به‌طوری که در سال‌های اخیر بسیاری از مواد شیمیایی و ترکیبات صنعتی از جنبه‌های اقتصادی و دامنه سلامتی طبقه‌بندی و در آبزی‌پروری استفاده شده است. در حال حاضر چالش عمده در آبزی‌پروری تجاری، بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده برای بهینه‌سازی رشد و ارتقاء سلامت ماهیان می‌باشد. ایده جدیدی که در این رابطه مطرح شده استفاده از پربیوتیک در جیره غذایی ماهی و میگو می‌باشد. پربیوتیک‌ها عناصر غذایی (کربوهیدرات‌های) غیر قابل هضمی هستند که از

Archive of SID

www.SID.ir

طریق تحریک رشد یا فعال کردن یک یا تعداد محدودی از گونه‌های باکتریایی که در روده وجود دارند، اثرات سودمندی بر میزبان داشته و سلامتی آن را بهبود می‌بخشند (۵)، بنابراین پربیوتیک‌ها باعث بهبود و تعادل میکروفلور روده و افزایش مکانیسم دفاعی میزبان می‌شوند. عناصر غذایی که به‌عنوان پربیوتیک طبقه‌بندی می‌شوند بایستی خواصی را داشته باشند از جمله: در بخش‌های فوقانی دستگاه گوارش نبایستی هضم و جذب شوند، توسط یک یا تعدادی از باکتری‌های مفید روده بصورت گزینشی تخمیر شوند و فلور میکروبی روده را به تولید ترکیبات سالم‌تر سوق دهند (۳). تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه و اسیدلاکتیک ناشی از تخمیر اینولین منجر به کاهش pH روده می‌شود که شرایط مناسبی را برای رشد باکتری‌های اسید لاکتیک فراهم می‌کند (۱۹). در حال حاضر پربیوتیک‌ها بیشتر بر اساس توانایی شان در افزایش رشد میکروارگانیسم‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک انتخاب می‌شوند (۵). اینولین یک کربوهیدرات گیاهی غیر قندی هموپلی‌ساکاریدی است که دارای فیبر محلول بوده و از گیاهان مختلفی با درجه پلیمریزاسیون متفاوت بدست می‌آید (۱۶). با وجود اثرات مفیدی که برای پربیوتیک در نظر گرفته شده است، تحقیقات در این زمینه هنوز در آغاز راه خود قرار داشته و تعداد محدودی تحقیق در زمینه اثر پربیوتیک در ماهیان انجام شده است که از جمله آنها می‌توان به تأثیر اینولین در ماهی چار قطبی (*Salvelinus alpinus*) (۱۲)، تأثیر اینولین و الیگوفروکتوز روی لارو ماهی کفشک (*Psetta maxima*) و تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) (۹ و ۱۰) اشاره کرد.

مواد و روش‌ها

زمان و محل اجرای تحقیق: این بررسی از اواسط خرداد ماه تا اواخر مرداد ماه سال ۱۳۸۶ به‌مدت ۸ هفته در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی آق قلا انجام پذیرفت. پس از سازگاری اولیه و عادت دهی بچه ماهیان به غذای دستی مورد استفاده در آزمایش، تعداد ۶۰۰ عدد بچه فیل ماهی با وزن متوسط ۱۶/۱۴±۰/۳۸ گرم با تراکم ۵۰ عدد و میانگین بیوماس اولیه ۸۲۱/۵۸ گرم در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس که با حدود ۸۰۰ لیتر آب پر شده بودند کشت گردیدند.

نوع پربیوتیک مصرفی: پربیوتیک مورد استفاده در این آزمایش اینولین (رافتیلین ST) است که فروکتان‌های خطی β-(۲ → ۱) می‌باشد. رافتیلین شکل استاندارد اینولین استخراج شده از ریشه گیاه کاسنی می‌باشد. درجه پلیمریزاسیون آن ۶۰-۲ درصد می‌باشد. حداقل میزان فروکتان‌های تضمین شده توسط کارخانه ORAFTI ۹۰ درصد است. ترکیبات دیگر آن شامل گلوکز، فروکتوز و ساکارز می‌باشد. این پربیوتیک از شرکت ORAFTI کشور بلژیک تهیه گردید.

تهیه و ساخت جیره‌های آزمایشی: این تحقیق با استفاده از طرح کاملاً تصادفی شامل سه سطح اینولین ۱، ۲ و۳ درصد که جایگزین سلولز جیره شاهد گردیدند (۱۰) با سه تکرار طراحی شد. جیره‌نویسی با استفاده از نرم‌افزار لیندو (Lindo, 1994) و با توجه به احتیاجات غذایی فیل ماهی برای هر یک از جیره‌های آزمایشی تعیین شد. از پودر ماهی کیلکا به‌عنوان منبع اصلی پروتئین، از روغن ماهی کیلکا و روغن سویا به‌عنوان منبع انرژی و عامل تنظیم انرژی جیره استفاده شد. میزان استفاده از ویتامین‌ها، مواد معدنی و سایر مکمل‌ها و افزودنی‌ها نیز در تمام جیره‌ها یکسان بود (جدول ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- اجزاء غذایی و ترکیب شیمیایی جیره های آزمایشی به درصد برای فیل ماهیان جوان پرورشی طی ۸ هفته پرورش

اجزاءجیره / تیمار	شاهد	۱٪ اینولین	۲٪ اینولین	۳٪ اینولین
پودر ماهی کیلکا	٦١/٧	٦١/٧	٦١/٧	٦١/٧
دکسترین	٢٠	٢٠	٢٠	٢٠
روغن ماهی کیلکا	٤	٤	٤	٤
روغن سویا	٤	٤	٤	٤
مکمل معدنی- ویتامینی[1]	٥	٥	٥	٥
سلولز	٣	٢	١	٠
پربیوتیک اینولین	٠	١	٢	٣
مواد چسباننده (همبند)[2]	٢	٢	٢	٢
ضد قارچ[3]	٠/٢٥	٠/٢٥	٠/٢٥	٠/٢٥
آنتی اکسیدانت[4]	٠/٠٥	٠/٠٥	٠/٠٥	٠/٠٥
تجزیه تقریبی جیره ها (درصد ماده خشک)				
ماده خشک	٩٧/٥٦	٩٧/٨٦	٩٧/٥٨	٩٧/٧٩
پروتئین خام	٣٩/٠٤	٣٨/٦٣	٣٨/٩	٣٨/٦٨
چربی خام	١٧/٩٣	١٧/٢١	١٦/٨٨	١٨/٣٢
خاکستر	٩/١٧	٩/١٢	٩/٣٤	١٠/٦٢
عصاره عاری از ازت	٣١/٧٧	٣٢/٥٥	٣٢/٥٨	٢٩/٩٢
انرژی خام (مگاژول بر کیلوگرم جیره)	١٨/٤٦	١٩/٢٣	١٩/٤٦	٢٠/٠٩

۱- مکمل معدنی ویتامینی تحت عنوان ویتامینت بوده و شامل: ویتامین A، C، D3، E، B1، B2، B6، K3، نیکوتینامید؛ مواد معدنی شامل مس، آهن، روی، منگنز

۲- همبند آمت محصولی از شرکت افراز مهر تابان شهر یزد می باشد. و از هیدرولیز پروتئین‌های حیوانی مخصوصا سوپ حاصل از پخت ماهی تهیه می‌شود و حاوی ۷۱/۹۸٪ پروتئین، ۰/۹٪ الیاف، ۹/۵۵٪ رطوبت و ۱۷/۸٪ خاکستر می‌باشد.

۳- نوع ضد قارچ توکسیبان پریمیکس بوده، ترکیبات آن شامل آلومینوسیلیکات، زئولیت، بنتونایت، پروپیونات آمونیوم، عامل ژلانینی‌کننده و مواد معدنی می‌باشد.

٤- آنتی اکسیدانت از نوع بوتیل هیدروکسی تولوئن بوده (Butylated hydroxytoluene (BHT و از شرکت خوراک دام مازندران شهرستان ساری تهیه شد.

آزمایش‌های باکتریایی: به‌منظور بررسی قابلیت تشکیل کلنی و تثبیت لاکتوباسیلوس‌ها در روده فیل ماهیان پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف پربیوتیک اینولین، در ابتدا، وسط و انتهای دوره آزمایش بطور تصادفی نمونه‌برداری انجام گردید. جهت رفع جمعیت باکتری‌های سطح بدن ماهیان، نمونه‌های ماهی ابتدا در محلول بنزالکونیوم کلراید ۰/۱ درصد به‌مدت ٦٠ ثانیه قرار گرفته (۱۰) و سپس ناحیه شکمی ماهیان با استفاده از تیغ جراحی استریل شکافته و روده آنها پس از جداسازی به‌منظور هموژن‌سازی به هاون چینی استریل منتقل گشت. پس از تهیه هموژن با استفاده از محلول نمکی نرمال استریل (۰/۸۷ w/v Nacl درصد) رقت‌های سریالی در دامنه 10^{-1} تا 10^{-7} تهیه گردید. از رقت‌های فوق تحت شرایط استریل توسط نمونه‌بردار، حجمی معادل ۰/۱ میلی‌لیتر برداشته و به پلیت حاوی محیط کشت نوترینت آگار (Nutrient agar (NA (شمارش کلی باکتریایی)، تریپتیک سوی آگار (Tryptic soy agar (TSA (شمارش کلی باکتریایی)، سابورد دکستروز

Archive of SID

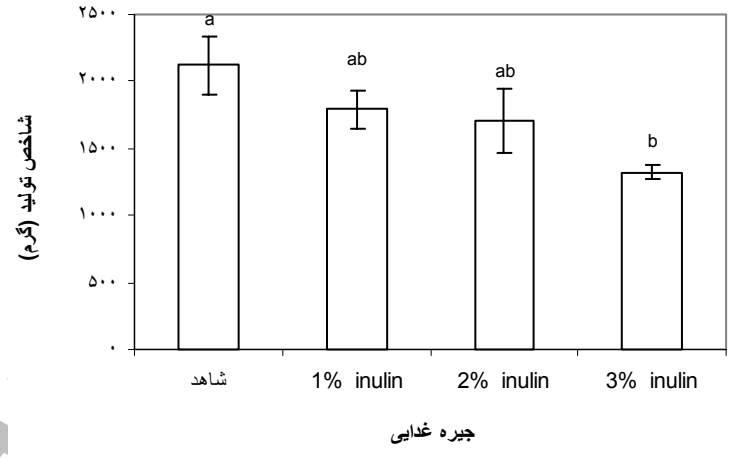
www.SID.ir

آگار Sabouraud dextrose agar (SDA) (شمارش کلنی قارچ و مخمر) و ام-آر- اس آگار DeMan,Rogosa and Sharpe (MRS) (تشکیل کلنی توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک) منتقل و در سطح آن پخش گردیدند (۱۰ و ۱٤). پلیت‌های فوق به مدت ۵ شبانه روز در دمای اتاق انکوباسیون شده و سرانجام تعداد باکتری‌ها در هر یک از نمونه ها بر حسب لگاریتم واحد کلنی (تعداد کلنی حاصله × عکس ضریب رقیق‌سازی= CFU) (CFU/ g intestine) شمارش و تعیین گردیدند (۱۳).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن با کمک نرم افزار SPSS (ویرایش نهم) انجام پذیرفت و وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اعتماد ۵ درصد ($P<۰/۰۵$) تعیین گردید.

نتایج

شاخص تولید: تولید خالص ماهی در تیمارهایی که از سطوح مختلف اینولین تغذیه کرده بودند در مقایسه با ماهیان گروه شاهد کاهش یافت و اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). در بین تیمارهای آزمایشی حاوی اینولین، بیشترین مقدار این شاخص در سطح ۱ درصد اینولین مشاهده گردید. با این حال تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P>۰/۰۵$). کمترین مقدار تولید خالص در تیمار ۳ درصد اینولین معادل ۱۳۲٤/٦۲ گرم و بیشترین آن در گروه شاهد برابر ۲۱۱۸/۷۹ گرم تعیین گردید (شکل ۱). نتایج حاصل از رگرسیون خطی حاکی از همبستگی منفی معنی‌داری بین شاخص تولید و افزایش سطح اینولین در جیره بود ($P=۰/۰۲۵$ ،$r = -۰/۹۷۵$).



شکل ۱- میانگین شاخص تولید در فیل ماهیان جوان پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف پریبیوتیک اینولین طی ۸ هفته

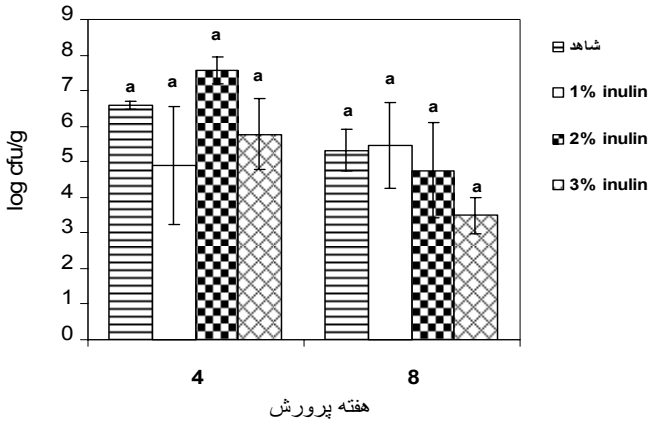
شمارش کلی باکتری‌ها در محیط کشت TSA : در شروع آزمایش لگاریتم واحد شمارش کل باکتری‌های روده معادل CFU/g ۵/۱ بود. تعداد کل باکتری‌های روده در هفته چهارم و هشتم در محیط کشت TSA اختلاف معنی‌داری را در مقایسه بین گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی حاوی اینولین نشان نداد ($P>۰/۰۵$). در انتهای دوره پرورش با افزایش سطح اینولین در جیره، روند کاهشی در تعداد کل باکتری‌های روده مشاهده گردید (شکل ۲).

شمارش کلی باکتریها در محیط کشت NA : لگاریتم واحد شمارش کل باکتری‌های موجود در محیط کشت NA در ابتدای آزمایش به سطحی معادل CFU/g ٤/۹۵ رسید. در محیط کشت NA اختلاف معنی‌داری در تعداد کل باکتری‌های روده در هفته چهارم در تیمارهای مورد

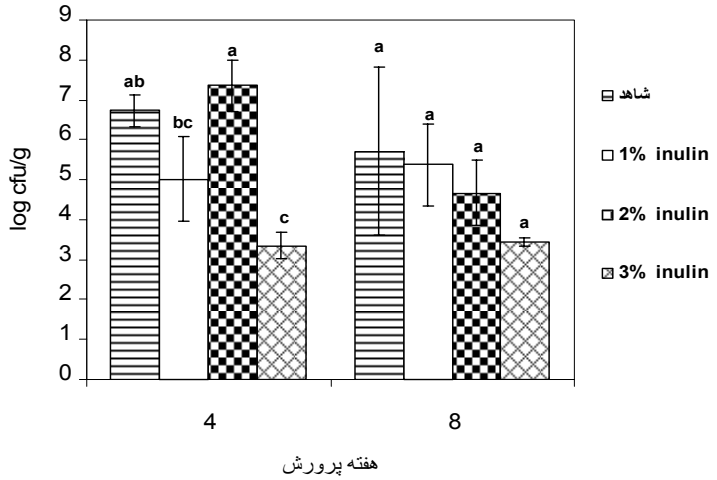
Archive of SID

www.SID.ir

بررسی مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). در هفته هشتم روند مشابهی همانند محیط کشت TSA مشاهده گردید و با افزایش سطح اینولین در جیره، روند کاهشی در تعداد کل باکتری‌های روده بدون تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید ($P>۰/۰۵$) (شکل ۳).



شکل۲- تعداد کل باکتری‌های موجود (CFU/g) در روده فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف اینولین در محیط کشت TSA



شکل ۳- تعداد کل باکتری‌های موجود (CFU/g) در روده فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف اینولین در محیط کشت NA

شمارش کلی لاکتوباسیلوس‌ها در محیط کشت MRS: لگاریتم واحد تعداد کل لاکتوباسیلوس‌های روده در شروع آزمایش معادل ٤/٣٧ CFU/g بود. تعداد کل لاکتوباسیلوس های روده در هفته چهارم و هشتم در محیط کشت MRS اختلاف معنی‌داری را در مقایسه بین گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی نشان داد ($P<۰/۰۵$).

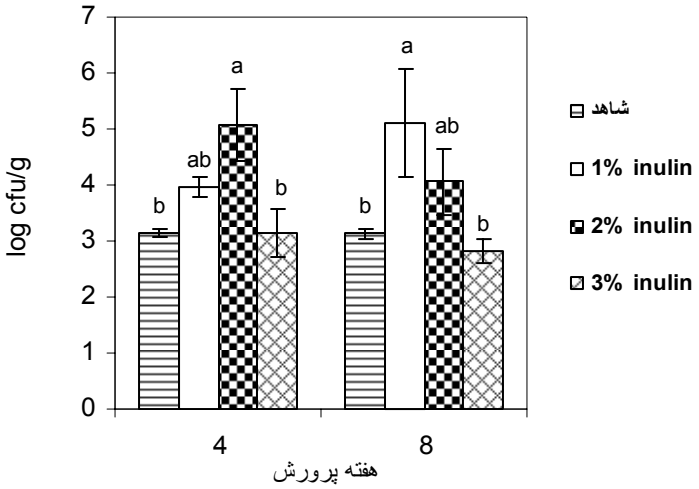
جدول ۲- مشخصات افتراقی بدست آمده از تست‌های بیوشیمیایی گونه‌های لاکتوباسیلوس

گونه / تست	کاتالاز	نیترات	مانیتول	رافینوز	رشد در ٤٥ درجه
لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	–	+/_	+/_	+	+/_
لاکتوباسیلوس کازئی			+	–	+
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس			–	+/_	–
لاکتوباسیلوس لیشمانی			–	+/_	–

+/_ منفی (کمتر مثبت) _/+ مثبت (کمتر منفی)

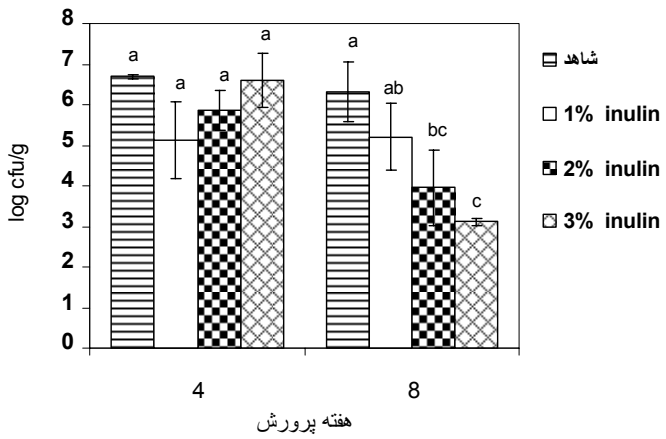
www.SID.ir

گروه شاهد و تیمار ۳ درصد اینولین در این دو زمان اختلافی را نشان ندادند ولی این دو تیمار با تیمار ۲ درصد اینولین در هفته چهارم پرورش و با تیمار ۱ درصد اینولین در هفته هشتم پرورش اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (شکل ٤). بیشترین میزان لاکتوباسیلوس‌های روده در پایان دوره آزمایش در فیل ماهیان تغذیه شده در سطح ۱ درصد اینولین جیره مشاهده گردید. در هفته هشتم نیز با افزایش سطح اینولین در جیره نیز روند کاهشی در تعداد کل لاکتوباسیلوس‌های روده مشاهده گردید. نتایج حاصل از بررسی تشخیص گونه‌ای لاکتوباسیلوس موجود در روده فیل ماهیان پرورشی بر مبنای کشت مجدد کلنی و پرگنه‌های جدا شده در محیط نوترینت براث، محیط آگار خوندار و انجام آزمایشات بیوشیمیایی نشان داد گونه *Lactobacillus plantarum* تحت شرایط هوازی از روده فیل ماهی جدا شد که این موضوع در جدول ۲ نشان داده شده است.



شکل ٤- تعداد کل باکتری‌های اسید لاکتیک (cfu/g) در روده فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف اینولین

شمارش کلی مخمر و قارچ در محیط کشت SDA: در شروع آزمایش CFU کل مخمر و قارچ به ازای هر گرم از روده معادل ۳/۷۷ بود. در هفته چهارم پرورش اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی و نیز تیمار شاهد بدست نیامد ($P>۰/۰۵$). در هفته هشتم پرورش، از نظر کمی (شمارش کلنی‌ها) نیز تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$)؛ بدین‌ترتیب که با افزایش سطح پربیوتیک اینولین تعداد کلنی مخمر و قارچ در روده کاهش یافت.



شکل ٥- تعداد کل قارچ و مخمر (CFU/g) در روده فیل ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف اینولین

Archive

www.SID.ir

بحث

آبزی پروری از سریع الرشد ترین بخش‌های تولید بوده و در کنار این رشد قابل توجه همواره با مشکلاتی روبرو بوده که از جمله آن می‌توان به تغییرات کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و مشکلات تغذیه‌ای اشاره کرد، به گونه‌ای که گسترش اقتصاد این بخش را در بسیاری از کشورهای جهان تحت تأثیر قرار داده است و همواره راه‌حل‌هایی نیز برای برطرف کردن این مشکلات ارائه شده است که موفقیت چندانی نداشته‌اند. در سال‌های اخیر استفاده از پربیوتیک‌ها به‌عنوان یک ایده مطرح شده است که این ترکیبات جزئی از اجزای غذایی غیرقابل هضم هستند و از طریق بهبود فلور باکتری‌های روده، اثرات زیانبار عوامل عفونت زا را کاهش و میزان بقاء را در مواجهه با عوامل بیماریزا افزایش می‌دهند. چنین اطلاعاتی در خصوص تأثیر پربیوتیک‌ها در موجودات آبزی محدود می‌باشد.

فلور میکروبی ماهیان شامل مجموعه‌ای از باکتری‌های هوازی، بی‌هوازی اختیاری و بی‌هوازی اجباری می‌باشد که نقش مهمی را در هضم غذا و کنترل بیماری‌ها بر عهده دارند. فلور باکتریایی دستگاه گوارش ماهیان شامل باکتری‌های دائم[1]، موقت و در حال عبور (که جزء فلور ثابت باکتریایی شمرده نمی‌شوند)[2] می‌باشد. اکوسیستم روده ماهیان میکروفلور چندان ثابتی ندارد، اگرچه دستگاه گوارش ماهی اکوسیستم متفاوتی را نسبت به آب محیط پرورش فراهم می‌نماید (۲۱). با این وجود سایر محققین به هیچ شباهتی بین گروه‌های باکتریایی جدا شده از آب، روده و جیره غذایی دست نیافتند (۱۸).

حضور باکتری‌های اسید لاکتیک به‌عنوان باکتری‌های دائم در اکوسیستم روده ماهیان از جمله ماهی کاد اقیانوس اطلس (*Gadus morhua*)، قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و چار قطبی (*Salvelinus alpinus*) ثابت شده است اما جزء فلور غالب روده نیستند (۷ و ۲۱). باکتری‌های اسید لاکتیک بواسطه تولید باکتریوسین‌ها مانع از رشد باکتری‌های بیماریزا شده و بدین‌ترتیب اثرات مثبتی بر میکروفلور روده ماهی دارند. در بررسی حاضر نیز با افزایش میزان اینولین جیره از ۱ تا ۳ درصد؛ شاخص تولید ماهی و تعداد کل لاکتوباسیلوس‌های روده کاهش یافت. در هر دو گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی، بخش عمده باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده متعلق به‌گونه *Lactobacillus plantarum* بود که احتمال می‌رود جزء فلور موقت باشد اما دقیقا معلوم نیست. وجود این گونه لاکتوباسیلوس در فلور اولیه روده لارو ٤ روزه ماهی کاد اقیانوس اطلس که در تماس با ماهیانی که واجد این باکتری بودند، گزارش شده است (۲۰) و نتیجه‌گیری شد که فلور باکتریایی ماهیان الزاما تابع جیره غذایی و آب محیط پرورشی نیست.

در تمامی تیمارهای مورد بررسی یک روند کاهشی در شمارش کلی باکتریایی، شمارش کلی قارچ و مخمر و شمارش لاکتوباسیلوس‌ها در انتهای دوره پرورش (هفته هشتم) مشاهده گردید که دلایل متعددی را برای این موضوع از جمله تغییرات فاکتورهای تغذیه‌ای و محیطی به ویژه درجه حرارت آب می‌توان ذکر کرد. در جدا سازی باکتری‌های اسید لاکتیک فاکتورهایی نظیر نوع محیط کشت، دمای انکوباسیون و طول مدت انکوباسیون بسیار مهم به نظر می‌رسند (۷). علاوه بر موارد مذکور، RingØ و همکاران (۲۰۰٦) عدم وجود گلوکز در محیط کشت و کند رشد بودن را عامل محدود کننده دیگری برای رشد باکتری‌های اسید لاکتیک ذکر کرده‌اند.

در مطالعه‌ای افزودن پربیوتیک لاکتوسوکروز به جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و ماهی قزل‌آلا نتیجه‌گیری شد که این پربیوتیک به‌میزان خیلی کمی توسط فلور روده این ماهیان مورد مصرف قرار گرفته است (۸). همچنین نتایج بررسی این محققین در ماهی شانک (*Pagrus major*) نشان داد لاکتوسوکروز باعث افزایش ضخامت غشاء پوششی روده گشته و این

1- indigenous
2- transit

Archive of SID

www.SID.ir

قند به‌عنوان سوبسترا توسط میکروفلور روده مورد مصرف قرار گرفته است.

در مطالعه‌ای تأثیر اینولین، الیگوفروکتوز و لاکتوسوکروز به عنوان پربیوتیک روی فلور باکتریایی روده در لارو ماهی کفشک مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق لارو ماهی توربوت (از سن ۲۹ تا ۵۵ روزگی) با جیره های آزمایشی در سطح ۲ درصد از پربیوتیک‌های مذکور و گروه شاهد نیز به‌میزان ۲ درصد سلولز به‌عنوان منبع کربوهیدرات مورد تغذیه قرار گرفتند. فلور باکتریایی در لارو کفشک متغیر بود و در محیط کشت TCBS agar سویه *Vibrio* spp غالب بود. در گروه تغذیه شده با الیگوفروکتوز، حدود ١٤ درصد کل فلور باکتریایی جدا شده از روده به سویه *Bacillus* spp تعلق داشت و این سویه توانست الیگوفروکتوز را به‌عنوان تنها منبع کربن مصرف کند و نتیجه‌گیری شد پربیوتیک الیگوفروکتوز می‌تواند نقش مفیدی در رشد لارو ماهی کفشک داشته باشد (۱۰).

Mahious و همکاران (۲۰۰۵)، طی بررسی روی تنوع تاکسونومیک فلور میکروبی روده تاسماهی سیبری و کشت محتویات دستگاه گوارش در دو محیط کشت NA (کل باکتری‌های هترترف) و MRS و انکوباسیون در دمای اتاق، ٤٥٠ گروه باکتریایی جدا نمودند که از این تعداد اکثریت باکتری‌های جدا شده به گروه *Bacillus subtilis* (۱۹/۷۸ درصد) و اعضای خانواده Entrobacteriaceae شامل *Plesiomonas shigelloides* (۱۱/۷ درصد) و *Hafnia alvei* (۱۲ درصد) تعلق داشت (۱۰).

در مطالعه RingØ و همکاران (۲۰۰٦) جایگزینی اینولین به میزان ۱۵ درصد با دکسترین موجود در جیره شاهد در ماهی چار قطبی منجر به کاهش جمعیت باکتریهای روده از $٤/٨\times١٠^{٥}$ به $٣/٥٦\times١٠^{٤}$ به ازای هر گرم از وزن روده شد. همچنین کلنی باکتری‌ها در بخش خلفی روده در ماهیان تغذیه شده با اینولین بیشتر از نوع باکتری‌های گرم مثبت از جنس *Staphylococcus*، *Streptococcus*، *Carnobacterrium* و *Bacillus* بود. در حالی که سویه‌هایی شبه *Carnobacterium divergen* از ماهیان تغذیه شده از دکسترین و سویه شبه *Carnobacterium maltaromicus* از بخش خلفی روده ماهیان تغذیه کرده از اینولین، جدا شد (۱۵). در بررسی حاضر نیز با افزایش سطح اینولین از ۱ تا ۳ درصد جیره، تراکم کل باکتری‌های روده کاهش یافت و با نتایج این تحقیق مطابقت می‌نماید چرا که مشخص شده که اینولین استخراج شده از ریشه کاسنی نسبت به سایر انواع پربیوتیک نظیر الیگوفروکتوز زنجیره طولانی‌تری داشته و آهسته‌تر تخمیر می‌شود. بیفیدوباکترها و لاکتوباسیلوس‌ها ترجیحاً الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم با درجه پلیمریزاسیون کمتر را مورد مصرف قرار می‌دهند (۱۷).

در مطالعه ای توسط Askarian و همکاران (۲۰۰۷) حضور باکتری‌های اسید لاکتیک به‌عنوان پروبیوتیک در دستگاه گوارش فیل ماهی و تاسماهی ایران (*Acipenser persicus*) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج باکتریایی در محیط کشت TSA و MRS تحت شرایط هوازی و بی‌هوازی نشان داد که *Lactobacillus* sp. از مری، معده و روده بزرگ فیل ماهی تحت شرایط هوازی جدا شد. این سویه نیز تحت شرایط بی‌هوازی علاوه بر بخش‌های مذکور، از روده کوچک نیز جدا شد. همچنین در بین گونه‌های مختلف باکتری‌های اسید لاکتیک، سویه *Enterococcus* sp. فقط از روده بزرگ و آن هم تحت شرایط هوازی جدا شد و یک فرآورده باکتریایی را تحت عنوان Belugatex® به‌عنوان پروبیوتیک معرفی کردند (۱). همچنین این محققین طی بررسی روی باکتری‌های اسید لاکتیک در فیل ماهی و تاسماهی ایران نتیجه‌گیری کردند که کلنی قابل شمارش باکتریایی در دو گونه مذکور مشابه نیستند و در فیل ماهی نسبت به تاسماهی ایران واحد شمارش کلنی بطور معنی‌داری بیشتر بود. در این مطالعه، دو گونه از باکتری‌های اسید لاکتیک شامل *Entrococcus seriolicida* و *Leuconostoc mesenteroides* از

Archive of SID

www.SID.ir

دستگاه گوارش تاسماهی ایران جدا شد. شمارش کلنی *Leuconostoc mesenteroides* بطور معنی‌داری بیشتر از *Entrococcus seriolicida* بود. همچنین *Lactobacillus curvatus*, *Lactococcus raffinolactis* و *Lactococcus lactis* *Streptococcus* sp. از دستگاه گوارش فیل ماهی جدا شد و بیشترین کلنی متعلق به *Lactobacillus curvatus* بود (۲). نتایج مطالعه حاضر نیز حضور باکتری‌های اسید لاکتیک در روده فیل ماهیان جوان پرورشی را تأیید می‌نماید.

Cerezuela و همکاران (۲۰۰۸) با بکارگیری اینولین به میزان ۰/۵ تا ۱ درصد جیره (۵ تا ۱۰ گرم در هر کیلوگرم جیره) ماهی سیم دریایی (*Spaus aurata*) گزارش کردند که اینولین نمی‌تواند محرک ایمنی مناسبی برای این گونه باشد (۳) که نتایج یافته این تحقیق را تأیید می‌نماید.

در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که سطوح متفاوت پربیوتیک اینولین قابلیت تأثیرگذاری بالایی بر کارایی تولید در فیل ماهی پرورشی ندارند و این نوع پربیوتیک نمی‌تواند مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهی باشد. بنابراین بکارگیری سایر پربیوتیک‌ها نظیر الیگوفروکتوز و همچنین اینولین در ترکیب با سایر مکمل‌های غذایی میکروبی نظیر پروبیوتیک‌ها که در اصلاح سین بیوتیک (*Synbiotic*) نامیده می‌شود، شاید بتواند در کارایی تولید فیل ماهی مؤثر واقع شود. سین‌بیوتیک‌ها ترکیبی از پروبیوتیک و پربیوتیک هستند و احتمال می‌رود برای بهبود رشد و سلامتی ارگانیزم‌های آبزی در پرورش متراکم مناسب باشند.

سپاسگزاری

از مدیر کل محترم وقت شیلات گلستان آقای دکتر جعفری، ریاست محترم کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی آقای مهندس علی‌محمدی و کارشناسان و پرسنل محترم زحمتکش آن مرکز به‌دلیل مساعدت و فراهم آوردن تسهیلات لازم در اجرای این پروژه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1.Askarian, F., and Kousha, A. 2007. Introduce of Belugatex® as natural probiotics isolated from Beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). International Training Course on Fish Nutrition & Disease. Ghaemshahr, Islamic Azad University September 5th 2007. pp. 26. (Ghaemshahr, Iran).

2.Askarian, F., Kousha, A., Shenavar, A., RingØ, E., Bahmani, M., Khorshidi, K., and Matinfar, A., 2007. Isolated of lactic acid bacteria as probiotic from gastrointestinal tracts of Beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). International Training Course on Fish Nutrition & Disease. Ghaemshahr, Islamic Azad University September 5th 2007. pp: 28. (Ghaemshahr, Iran).

3.Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer, J., and Esteban, A., 2008. Effect of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata*) innate immune parameters. Journal of Aquaculture. 24:663-668.

4.Fooks, L.J., and Gibson, G.R., 2002. Probiotic as modulators of the gut flora. British Journal if Nutrition, Suppl. 1: S39-S49.

5.Gibson, G.R., and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition. 125:1401-1412.

6.Gibson, G.R. 1998. Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. British Journal of Nutrition, Suppl. 2: S209-S212.

7.Hagi, T., Tanaka, D., Iwamura, Y., and Hoshino, T., 2004. Diversity and seasonal changes in lactic acid bacteria in the intestinal tract of cultured freshwater fish. Journal of Aquaculture. 234:335-346.

8.Kihara, M., and Sakata, T., 2001. Influence of incubation temperature and various saccharides on the production of organic acids and gases by gut microbes of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in a micro-scale batch culture. J. Comp. Physiol. B. 171: 441-447.

Archive of SID

www.SID.ir

9.Mahious, A.S., and Ollevier, F., 2005. Probiotics and Prebiotics in Aquaculture: Review. 1st Regional Workshop on Techniques for Enrichment of Live Food for Use in Larviculture-AAARC, P: 17-26 (Urmia, Iran).
10.Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R., and Ollevier, F., 2005. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture International. 14: 219-229.
11.Makridis, P., Bergh, Q., Skjermo, J., and Vadstein, O., 2001. Addition of bacteria bioencapsulated in Artemia metanauplii to a rearing system for halibut larvae. Aquaculture International 9: 225-235.
12.Olsen, R.E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M., and RingØ, E., 2001. Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Aquaculture Research. 32: 931- 934.
13.Peter, H., and Sneath, A. 1986. Bergeys manual of systematic Bacteriology. Vol 2: 1104-1154.
14.Rengpipat, S., Phianphak W., Piyatiratitivorakul S., and Menasveta P. 1998. Effects of a probiotic bacterium on survival and growth of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Journal of Aquaculture 167: 301-313.
15.RingØ, E., Sperstad, S., Myklebust, R., Mayhew, T.M., and Olsen, R.E. 2006. The effect of dietary inulin on aerobic bacteria associated with hindgut of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) Aquaculture Research. 37: 891- 897.
16.Roberfroid, M.B. 1993. Dietary fiber, inulin, and oligofructose - A review comparing their physiological effects. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 33: 103-148.
17.Roberfroid, M.B., Van Loo, J.A., and Gibson, E.R. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. Journal of Nutrition. 128: 11-19.
18.Sakata, T., Okabayashi, J., and Kakimoto, D., 1980b. Variation in the intestinal flora of tilapia reared in fresh and seawater. Bull. Jpn. Sco. Sci. Fish. 46: 967-975.
19.Schley, P.D., and Field, C.J. 2002. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. Brit. J. Nutr. 87: 221-230.
20.StrØm, E., and RingØ, E. 1993. Changes in the bacterial composition of early developing cod (*Gadus morhua*), larvae following inoculation of *Lactobacillus plantarum* into the water. In: Physiological and Biochemical Aspects of Fish Development (ed. by B. Walther & H.J. Fyn), pp: 226-228.
21.Sugita, H., Tokuyama, K., and Deguchi, Y. 1985. The intestinal microflora of Carp (*Cyprinus carpio*), Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and Tilapia (*Sarotherodon niloticus*). Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 51: 1325-1329.
22.Yoshimizu, M., Kimura, T., and Sakai, M. 1980. Microflora of the embryo and the fry of salmonids. Bull. Jpn. Sco. Sci. Fish. 46: 967-975.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of dietary prebiotic inulin on production and intestinal microflora density of juvenile Beluga, *Huso huso*

[*]R. Akrami[1], A.M. Hajimoradloo[2], A. Matinfar[3], A.M. Abedian Kenari[4] and R. Mazandarani[5]

[1]Ph.D. Student, Science & Research Branch, Islamic Azad University, [2]Dept. of Fisheries, Gorgan University Agricultural and Natural Resources, Gorgan, Iran, [3]Iranian Fisheries Research Organization, Tehran, Iran, [4]Department of Fisheries, Tarbiat Modarres University, Noor, Iran, [5]Department of Microbiology, Gorgan University Agricultural and Natural Resources, Gorgan, Iran

Email :akrami202@yahoo.com

Abstract

Use of prebiotics, indigestible dietary ingredients that beneficially affect the host by selectively stimulating the growth of and/or activating the metabolism of health-promoting bacteria in the intestinal tract, is a novel concept in aquaculture. Three replicate groups of fish (initially averaging weight and biomass were 16.14 ± 0.38 g and 821.58g, respectively in each group) were kept in 800L fiberglass tanks under homogenous condition and fed diets containing prebiotic inulin levels ranging from 1% to 3%. The basal diet was contained 3% cellulose. An 8-week feeding experiment was conducted to investigate the effect of different dietary prebiotic inulin on production and intestinal micro flora density of juvenile Beluga, *Huso huso*. The results of linear regression showed there was a negative relationship between production index and supplementation level of inulin. At the end of trial, the density of colony count, yeasts and moulds and lactobacillus count was decreased with supplementation level of inulin. The 1% inulin treatment showed an enhaced survival without any significance among treatments, and intestinal lactic acid bacteria (LAB) increased in this group in comparison with other groups. The experiment indicated that the prebiotic inulin didn't influence the increase of the production and it is not appropriate for supplementation in the diet of beluga.

***Keywords*:** Inulin; Prebiotic; Intestinal microflora density; Production; Beluga

Archive of SID

www.SID.ir