Archive of SID

بررسی مقایسه‌ای اثرات سطوح مختلف الیگوفروکتوز و مخمر غیرفعال جیره بر ترکیب میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل‌ماهی *Huso huso* (Linnaeus, 1758)

سید حسین حسینی فر *

استادیار شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

*نویسنده مسئول: Hoseinifar@gau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۸/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۱۲

چکیده:

هدف از این مطالعه بررسی اثرات سطوح مختلف دو نوع پربیوتیک الیگوفروکتوز و مخمر غیرفعال بر ترکیب میکروبیوتای روده ای بچه فیل ماهی (*Huso huso*) بود. این پژوهش در قالب یک طرح کاملا" تصادفی انجام شد که شامل تغذیه بچه فیل ماهی ها با جیره های غذایی حاوی ۱و ۲ درصد مخمر غیرفعال و ۱ و ۲ درصد الیگوفروکتوز به همراه یک گروه شاهد (۵ تیمار و ۳ تکرار) بود. بچه فیل ماهی ها با تراکم ۳۵ قطعه در تانک های فایبرگلاس (۸۰۰ لیتری) و میانگین وزنی (۰/۵۶ ± ۱۱/۴۰ گرم) در حوضچه های فایبرگلاس ذخیره سازی و به مدت ۶ هفته با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف مخمر غیرفعال و الیگوفروکتوز تغذیه شدند. در انتهای دوره میکروبیوتای روده ای (تعداد باکتری های زیست‌پذیر، تعداد باکتری های اسید لاکتیک و نسبت آنها) از طریق روش مبتنی بر کشت بررسی شد. نتایج این مطالعه حاکی از آن بود که بکارگیری این دو نوع پربیوتیک هیچ‌گونه اثر معنی‌داری بر تعداد کل باکتری-های زیست‌پذیر در مقایسه با تیمار شاهد نشان نداد ($P > ۰/۰۵$). بیشترین میزان افزایش تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمار ۲ درصد مخمر و ۲ درصد الیگوفروکتوز مشاهده شد که باتیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($P < ۰/۰۵$). نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک به تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر، در تمامی تیمارهای پربیوتیکی در طی دوره پرورش افزایش معنی دار نشان داد ($P < ۰/۰۵$) که از این لحاظ بیشترین میزان در تیمار ۲ درصد الیگوفروکتوز مشاهده گردید.

واژگان کلیدی: مخمر غیرفعال، الیگوفروکتوز ، میکروبیوتای روده‌ای، باکتری‌های اسیدلاکتیک، فیل ماهی

مقدمه

طیف گسترده‌ای از میکروب‌هایی که در محیط‌های آبی، خاکی، رسوبات و غذا یافت می‌شوند در دستگاه گوارش ماهیان نیز متمرکز شده و تشکیل میکروبیوتای روده‌ای را می‌دهند. اگرچه حضور باکتری‌های بومی در دستگاه گوارش ماهیان شناخته شده است، اما اطلاعات محدودی در زمینه جوامع میکروبی، استقرار، تنوع و مهم تر از همه امکان تغییر آن به سمت جوامع باکتریایی مفید وجود دارد (Nayaka, 2010). ثبات جمعیت باکتریایی از آن جهت حائز اهمیت می‌باشد که روده ماهیان جایگاه مهمی از نقطه نظر بروز عفونت‌های میکروبی و بیماری ماهیان به‌شمار می‌آید، بویژه زمانی‌که امکان استفاده از واکسیناسیون وجود نداشته باشد (Birkbeck *et al.*, 2005). همانند مهره‌داران عالی‌تر میکروبیوتای روده‌ای ماهی می‌بایستی به شرایط متفاوتی از قبیل: ترکیبات غذایی، pH، شرایط بی‌هوازی، غلظت نمک‌های صفراوی و آنزیم-های گوارشی سیستم ایمنی میزبان و تاثیرات متقابل جمعیت باکتریایی روده سازگار شوند (Hansen *et*

www.SID.ir

Archive of SID

al., 1999). تعداد نرمال جمعیت باکتری در رودهٔ ماهیان حدوداً 10^8 باکتری هتروتروفیک هوازی در گرم و تقریبا 10^5 باکتری غیرهوازی در گرم می‌باشد (Ringo *et al*., 1995).

در سال‌های اخیر استفاده از پربیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان جهت تغییر در میکروبیوتای روده ای آبزیان و سوق دادن آن به سمت جوامع باکتریایی بالقوه مفید از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شده است. پربیوتیک‌ها، ترکیبات غذایی غیر قابل هضمی هستند که باعث تحریک رشد و تکثیر یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های روده شده و بدین ترتیب سلامت میزبان را بهبود بخشیده (Collin *et al*., 1999) و در ارتقای رشد و سیستم ایمنی ماهی تأثیر به‌سزایی دارند (Schley and Field, 2002; Merrifield *et al*., 2010). در واقع این ترکیبات توسط باکتری های مفید تخمیر شده و بستر مناسبی را برای رشد و افزایش تعداد این دسته از باکتری‌ها درمیکروبیوتای روده ای فراهم می‌کنند (Marteau *et al*., 2001). مهمترین محصول حاصل از تخمیر پربیوتیک‌ها، اسیدهای چرب زنجیرهٔ کوتاه (Short chain fatty acids; SCFA) هستند (Mahious *et al*., 2005) که از طریق اپیتلیوم روده جذب شده و به‌عنوان منبع انرژی مهم برای میزبان، سبب تقویت انتروسیت‌ها و بهبود جذب مواد غذایی می‌شوند. نتایج امید بخشی از تأثیر مثبت پربیوتیک‌ها بر شاخص‌های رشد و بازماندگی گونه های مختلف آبزیان بدست آمده است (Ringo *et al*., 2014).

ماهیان خاویاری از جمله ماهیان ارزشمند از نظر اقتصادی هستند که امروزه به دلیل صید غیرمجاز، آلوده شدن محیط زیست و از بین رفتن زیستگاه‌های تکثیر درمعرض خطر انقراض قرار دارند (Carmona *et al*., 2009). پرورش ماهیان خاویاری تا سن بازاری جهت تولید گوشت و خاویار به دلیل اهمیت آن درکاهش فشار به ذخایرطبیعی مورد توجه بوده و توسعه یافته است (Pourkazemi, 1997). فیل ماهی یکی ازگونه های ماهیان خاویاری است که به دلیل رشد سریع، سازگاری با شرایط پرورشی و ارزش خاویار گزینه مناسبی برای پرورش می‌باشد (Mohseni *et al*., 2008). علی رغم گزارش های منتشر شده در زمینه اثرات پربیوتیک ها بر میکروبیوتای روده ای و افزایش تعداد باکتری های مفید، تا امروز اطلاعات محدودی در زمینهٔ پتانسیل ایجاد تغییر در میکروبیوتای روده ای فیل ماهی گزارش شده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف تعیین پتانسیل تغییر میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی و سوق دادن آن به سمت جوامع بالقوه مفید با استفاده از دو نوع پره‌بیوتیک در جیرهٔ غذایی صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در ایستگاه تحقیقات شیلاتی قره سو وابسته به موسسه تحقیقات شیلات ایران به مدت ۶ هفته انجام شد. بچه فیل ماهی ها با میانگین وزنی ۰/۵۶ ± ۱۱/۴۰ گرم از کارگاه شهید مرجانی تامین و پس از سازگاری اولیه به تعداد ۳۵ قطعه در حوضچه های فایبرگلاس ۳۵۰ لیتری ذخیره سازی شدند. جهت تامین اکسیژن مورد نیاز بچه ماهی ها هوادهی تانک ها به طور مداوم با استفاده از سنگ های هوای متصل به پمپ هواده مرکزی صورت پذیرفت. این بررسی در قالب یک طرح کاملا تصادفی انجام شد و در این مدت بچه‌ماهی‌ها با سطوح مختلف (۱ و ۲ درصد) دو نوع پربیوتیک الیگوفروکتوز و مخمر غیرفعال(مخمر *Saccharomyces cerevisiae*

www.SID.ir

Archive of SID

var. *ellipsoideus* غیرفعال) تغذیه شدند. مواد استفاده شده جهت تهیه جیره پایه فرموله شده شامل آرد ماهی، آرد گندم، آرد سویا، روغن ماهی، روغن سویا، مکمل های معدنی - ویتامینی و دیگر افزودنی ها بود (جدول ۱). برای تهیه جیره ها، ابتدا مواد اولیه خشک به همراه سطح مختلف پربیوتیک‌ها توزین شده و به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط گردیدند. پس از مخلوط شدن مواد اولیه مایع اضافه شده و مخلوط کردن به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. سپس خمیر حاصله با استفاده از یک چرخ گوشت با قطر ۳ میلی متر به رشته های بلند تبدیل شده و پس از خشک شدن در اندازه مناسب (قطر ۳ میلی متر) به صورت پلت تهیه گردید. پس از آن جیره ها در بسته بندی های مناسب تا زمان مصرف در یخچال (۴ درجه سانتی گراد) نگهداری شد. در طول دورهٔ آزمایش بچه فیل ماهی ها تا حد سیری و روزانه ۴ بار با جیره های آزمایش تغذیه شدند (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۶).

جدول ۱: اجزا و ترکیب شیمیایی تقریبی جیره های پایه مورد استفاده (Yousefi *et al*., 2012)

اجزای جیره	شاهد
پودر ماهی	۵۹/۲۵
آرد گندم	۲۱
روغن ماهی	۶
روغن سویا	۶
مکمل معدنی	۳
مکمل ویتامینی	۲
همبند*	۲
مخمر	۰
آنتی‌اکسیدانت**	۰/۵
ضدقارچ	۰/۲۵
پروتیئن خام	۴۳/۷۱
چربی خام	۱۸/۸۶
خاکستر	۹/۴۴
رطوبت	۹/۱۰

* آمت بایندر (یزد، ایران)

** بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن (BHT)

به منظور بررسی تغییرات ایجاد شده در ترکیب میکروبیوتای بومی در رودهٔ بچه فیل ماهی، تعداد باکتری های اسید لاکتیک، تعداد کل باکتری های زیست پذیر و همچنین نسبت باکتری های اسید لاکتیک به کل باکتری ها در اثر تغذیه با سطوح مختلف دو نوع پربیوتیک، در ابتدای دوره و همچنین انتهای دوره به طور تصادفی نمونه برداری از ماهیان (بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی) انجام شد. در ابتدای دوره تعداد ۱۵ قطعه بچه ماهی و در انتهای دوره تعداد ۳ ماهی از هر تکرار بطور تصادفی انتخاب شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه بچه فیل ماهی ها با وارد نمودن ضربه فیزیکی به ناحیه سر کشته شده

www.SID.ir

Archive of SID

و سپس با آب استریل شستشو داده شدند. بچه-ماهی‌ها، ۶۰ ثانیه در محلول بنزالکونیوم کلراید ۰/۱ درصد شسته شده و پس از شستشو با آب استریل، آب نمونه‌ها بطور کامل گرفته شد (Olsen *et al.*, 2001). که این عمل، سبب از بین رفتن کامل باکتری‌های سطح خارجی بدن آنها می‌شود. تا جهت بدست آوردن اثرات احتمالی مخمر غیرفعال بر جوامع باکتریایی میکروبیوتای روده‌ای و شمارش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک و نیز تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر در روده بچه‌ماهی‌ها از بروز خطای احتمالی کاسته شود.

پس از ضدعفونی کردن و شستشو با آب مقطر، نمونه ها با تیغ اسکالپل استریل، کالبدگشایی شده و رودهٔ آنها خارج شد. نمونه های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و به منظور هموژن نمودن به هاون های چینی استریل منتقل گردید. پس از هموژن نمودن نمونه های روده با استفاده از محلول نمکی استریل (۰/۸۷Nacl w/v درصد) دقت های 10^{-1} تا 10^{-7} تهیه گردید. از رقت های تهیه شده، تحت شرایط کاملا ضدعفونی حجمی معادل ۰/۱ میلی لیتر برداشته شد و به محیط های کشت پلیت کانت آگار یا PCA (به منظور تعیین تعداد کل باکتری های موجود در میکروبیوتای روده) و محیط کشت DeMan, Rogosa and Sharpe یا MRS (جهت تعیین تعداد باکتری های اسید لاکتیک) منتقل و در سطح پلیت پخش شدند (Rengepipat *et al.*, 1998; Mahious *et al.*, 2006). پس از انجام عمل کشت، انکوباسیون پلیت ها به مدت ۵ روز در دمای اتاق و در شرایط هوازی صورت پذیرفت (Mahious *et al.*, 2006). بعد از سپری شدن زمان انکوباسیون، باکتری های هر پلیت بر حسب لگاریتم واحد کلنی (CFU) در گرم وزن روده براساس مشخصات فنوتیپی شناسایی و شمارش شدند (Peter and Sneath, 1986).

با توجه به اهمیت پیراسنجه های کیفی آب در پرورش ماهی، علاوه بر دقت کافی در خصوص نظافت محل نگهداری بچه ماهی ها و کنترل کمیت آب ورودی، فاکتورهای های کیفی آب شامل دمای آب (با استفاده از دستگاه WTW ساخت کشور آلمان)، اکسیژن محلول (با استفاده از Oximeter, oxi320/set wtw)، pH آب (با استفاده از pH 323- B/setl-wtw.Best-Nr100745)، هدایت الکتریکی و شوری (با استفاده از دستگاه Cond 330i/set wtw) به صورت روزانه اندازه گیری و ثبت شدند. برای مقایسه بین تیمارها و نیز وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح احتمال ($P < ۰/۰۵$) از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون چند دامنه ای دانکن (Duncan's multiple-range test) استفاده گردید (Zar, 1994). داده های درصدی پیش از انجام آنالیز ها به صورت آرک سینوس (Arc sin) در آورده شدند کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۳) و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel, 2007 در محیط ویندوز انجام شد.

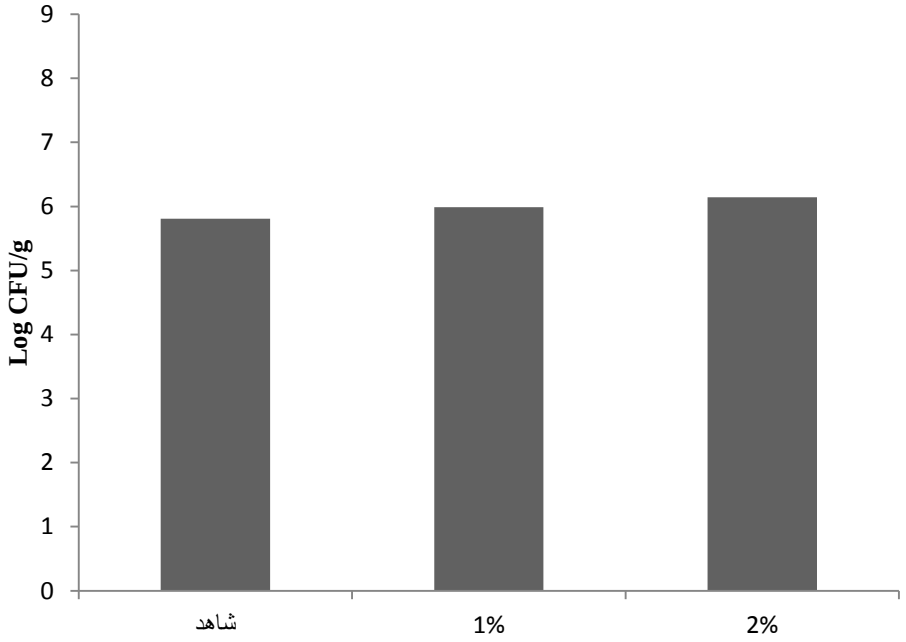
نتایج

نتایج بررسی میکروبیوتای روده ای: در ابتدای دوره تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر میکروبیوتای روده و تعداد باکتری های اسیدلاکتیک به ترتیب ۰/۷۳ ± ۴/۹۲ و ۰/۱۹ ± ۳/۶۸ واحد کلنی بر گرم وزن روده بود. مقادیر تعداد کل باکتری‌های زیست پذیر در فیل ماهی های تغذیه شده با سطوح مختلف مخمر غیرفعال و الیگوفروکتوز در شکل ۱ نشان داده شده

www.SID.ir

Archive of SID

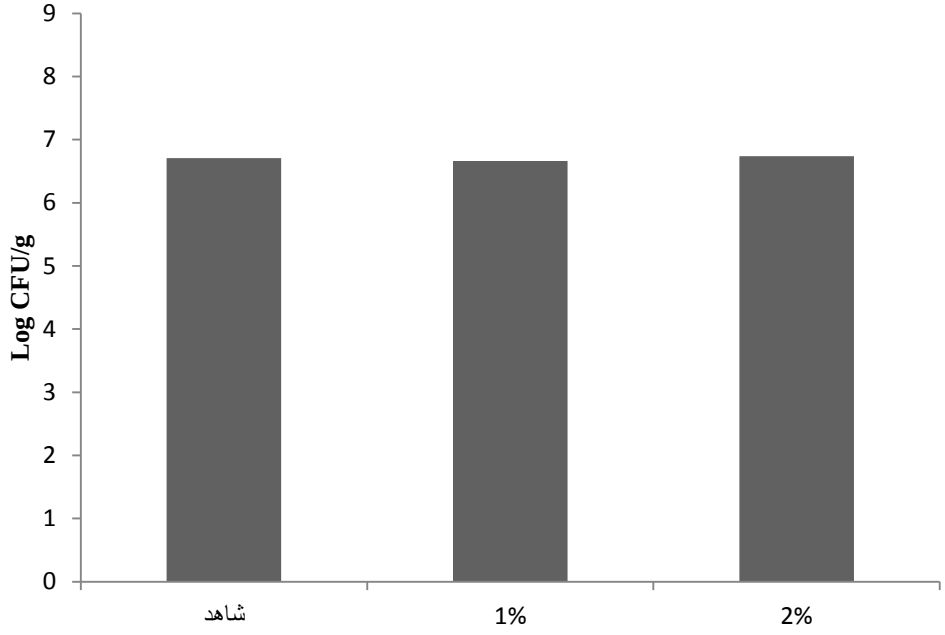
است. تعداد کل باکتری های زیست پذیر میکروبیوتای روده ای در تمامی تیمارهای تغذیه شده با پربیوتیک در طی دوره پرورش افزایش داشت اما تفاوت معنی داری بین این تیمارها و نیز بین این تیمارها و گروه شاهد مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$) (شکل ۱). بررسی تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در میکروبیوتای روده ای بچه فیل ماهی های تغذیه شده با جیره حاوی الیگوفروکتوز در انتهای دوره نشان داد افزودن ۲ درصد الیگوفروکتوز به جیره به طور معنی داری سبب افزایش آنها در مقایسه با تیمار ۱٪ و شاهد شد ($P < ۰/۰۵$) (شکل ۲)، همچنین در ماهی‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱ و ۲ درصد مخمر غیرفعال افزایش تعداد باکتری-های اسیدلاکتیک مشاهده شد اما اختلاف معنی-داری بین این دو تیمار و همچنین تیمار ۱ درصد و شاهد مشاهده نگردید ($P > ۰/۰۵$)، در حالیکه اختلاف معنی داری بین تیمار تغذیه شده با ۲٪ مخمر غیرفعال و شاهد مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$). بررسی نسبت (٪) باکتری‌های اسیدلاکتیک به تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر، نشان داد که در تمامی تیمارهای تغذیه شده با پره‌بیوتیک این نسبت افزایش یافت و از این لحاظ بین تمامی تیمارها پره-بیوتیکی و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$) (جدول ۲). بیشترین میزان افزایش نسبت باکتری های اسیدلاکتیک به تعداد کل باکتری های زیست پذیر در تیمار تغذیه شده با ۲ درصد الیگو فروکتوز مشاهده گردید.



شکل۱- اثرات مقادیر مختلف پربیوتیک ها الیگوفروکتوز بر تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر (برحسب لگاریتم واحد کلنی در گرم وزن روده) در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی

www.SID.ir

Archive of SID



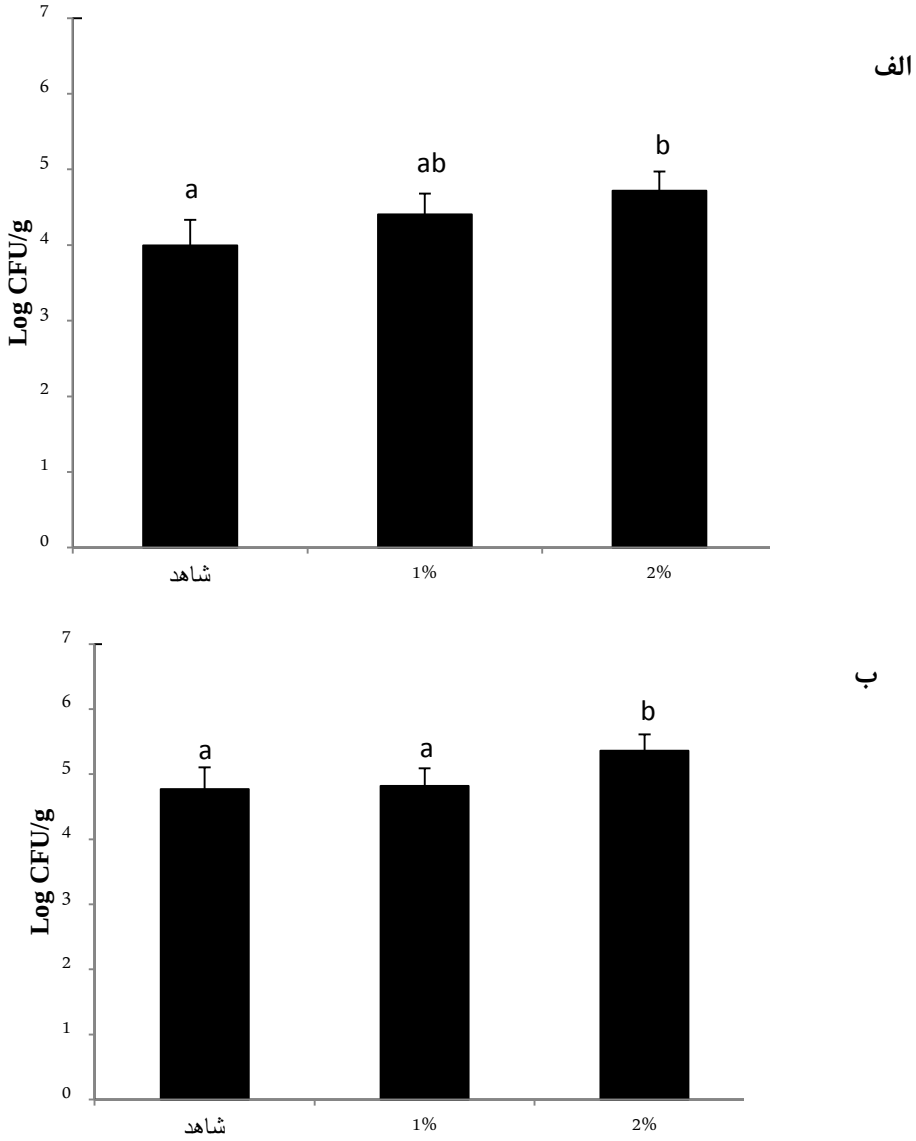
شکل ۲- اثرات مقادیر مختلف پربیوتیک ها مخمر غیرفعال بر تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر (برحسب لگاریتم واحد کلنی در گرم وزن روده) در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی

فاکتورهای کیفی آب

با توجه به وجود یکسان شرایط در تمامی ونیروها و جریان دائم آب ورودی تفاوت چندانی بین واحدهای آزمایشی از نظر فاکتورهای کیفی آب نبود. مقادیر اکسیژن محلول به طور متوسط در طول دورهٔ پرورش ۵/۷۳ ±۰/۴ میلی گرم در لیتر؛ دمای آب ۰/۵۷± ۲۴/۳۸ درجه سانتی گراد؛ pH آب ۰/۰۶± ۷/۹۷؛ قابلیت هدایت الکتریکی آب ۰/۰۱± ۴/۸۹ میلی موس بر سانتی متر؛ شوری آب ۲/۶ گرم بر لیتر در نوسان بود.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- اثرات مقادیر مختلف پربیوتیک های الیگوفروکتوز (الف) و مخمر غیرفعال (ب) بر تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک (برحسب لگاریتم واحد کلنی در گرم وزن روده) در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی. ستون‌ها (±SD میانگین) با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P<$ ۰/۰۵).

جدول۲. نسبت (٪) باکتری‌های اسیدلاکتیک به تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی در اثر تغذیه با سطوح مختلف الیگوفروکتوز و مخمر غیرفعال

		شاهد	۱ درصد	۲ درصد
نسبت LAB به TVC	الیگوفروکتوز	۱/۵۵± ۰/۳۴^{a}	۲/۵۳± ۰/۸۴^{b}	۵/۴۲±۱/۲۱^{c}
	مخمر غیرفعال	۱/۵۱± ۰/۳۵^{a}	۲/۶۰± ۰/۷۲^{b}	۳/۸۰±۰/۹۵^{c}

ردیف ها (±SD میانگین) با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P<$ ۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

پره‌بیوتیک‌ها از طریق بهبود فلور باکتریایی روده، آثار زیانبار عوامل عفونت‌زا را کاهش و میزان بازماندگی در مواجهه با عوامل بیماری‌زا را افزایش می‌دهند (Schley and field, 2002). فلور باکتریایی رودۀ ماهی شامل مجموعه پیچیده‌ای از انواع باکتری‌های هوازی، بی‌هوازی اختیاری و بی‌هوازی اجباری می‌باشد. باکتر های موجود در میکروبیوتای روده ای به شکل بومی (indigenous) یا موقت و گذرا (transit) هستند (Olsen et al., 2001). باکتری های اسید لاکتیک از جمله باکتری های مفید روده ای هستند که امروزه اهمیت بسیاری زیادی در به کارگیری به عنوان پروبیوتیک یا پربیوتیک دارند (Ringo & Gatesoupe, 1998). تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه نظیر: استات، پروپیونات ، بوتیرات و اسیدلاکتیک ناشی از تخمیر پربیوتیک، منجر به کاهش pH روده می‌شود که شرایط مناسب برای رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک را فراهم می‌کند (Schley and) Field, 2002). با وجود این که حضور باکتری های اسید لاکتیک در رودۀ بسیاری از ماهیان از جمله: ماهی کاد اقیانوس اطلس، ماهی آزاد اقیانوس اطلس، قزل آلای رنگین کمان، فیل ماهی، قره برون و چار قطبی ثابت شده است اما این باکتری ها جزء فلور غالب روده نیستند Sugita et al., 1985; Ringo & Gatesoupe, 1998; Hagi et al., 2004; Askarian & Kousha, (2007). افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در روده از طریق به‌کارگیری موادی که خاصیت پره-بیوتیکی دارند اثرات سودمندی را به دنبال خواهد داشت (پورامینی و حسینی فر، ۱۳۸۶). نتایج این مطالعه نشان داد بکارگیری الیگوفروکتوز و مخمر غیرفعال اثر معنی‌داری بر تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر در میکروبیوتای روده ای بچه فیل ماهی ندارد. این در حالی است که تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در انتهای دوره در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی‌های تغذیه شده با مخمر غیرفعال و الیگوفروکتوز ۲ درصد به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. نتایج مشابهی در مطالعه سطوح مختلف اینولین بر میکروفلور روده بچه فیل ماهی بدست آمده است (اکرمی، ۱۳۸۷). البته در مطالعه مذکور بیشترین سطح باکتری‌های اسید لاکتیک در میکروبیوتای روده‌ای مربوط به تیمار اینولین ۱ درصد بود و با افزایش سطح اینولین در جیره، جمعیت لاکتوباسیلوس های روده دچار کاهش شد. همراستا با یافته های مطالعه حاضر بکارگیری سطوح مختلف پربیوتیک ها مانان الیگوساکارید و فروکتو الیگوساکارید به طور معنی داری سبب افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در میکروبیوتای روده‌ای فیل ماهی و ازون برون گردید (Razeghi Mansour et al., 2011; Akrami et al., 2013). درحالی که Li و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که سطوح مختلف پربیوتیک الیگوفروکتوز که اثر مشخصی بر میکروبیوتای روده میگوی پاسفید غربی(*Litopenaeus vannamei*) ندارد (Li et al., 2007). نتایج مطالعه حاضر نیز منطبق بر نتایج مطالعات فوق‌الذکر می‌باشد و باکتری‌های اسید لاکتیک میکروفلور دستگاه گوارش فیل‌ماهی توانستند (در تیمار پربیوتیک الیگوفروکتوز ۲درصد و ۱درصد) به‌خوبی الیگوفروکتوز را تخمیر نموده و افزایش تعداد و غالبیت پیدا کنند. اختلاف نتایج مطالعه حاضر با برخی از مطالعات پیشین احتمالا" ناشی از نوع گونه، میزان پربیوتیک مورد استفاده و نحوه بکارگیری است. همچنین این بررسی افزایش معنی دار تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در

www.SID.ir

Archive of SID

میکروبیوتای روده ای را به موازات افزایش سطح بکارگیری مخمر در جیره نشان می‌دهد که نتایج مشابهی در اثر استفاده از مخمر نانوایی بر میکروبیوتای روده‌ای نیل تیلاپیا *Oreochromis niloticus* گزارش شده است (Abdel-Tawwab et al., 2008). بطورکلی پره‌بیوتیک الیگوفروکتوز کارایی بیشتری در مقایسه با مخمر غیرفعال در زمینه افزایش تعداد و نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک نشان داد. افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک پس از بکارگیری مخمر ساکارومایسیس سرویزیه غیرفعال و الیگوفروکتوز احتمالا در نتیجه تامین مواد غذایی مورد نیاز این باکتری های مفید روده ای می باشد. باکتری‌های اسیدلاکتیک قادر به تولید آنزیم های تجزیه کننده خارج سلولی نیستند بنابراین آن ها برای رشد وابسته به میکروارگانیزم دیگری هستند تا بر مولکول‌های پیچیده عمل کرده و مواد غذایی خاصی را برای آنها فراهم کنند (Ringo & Gatesoupe, 1998). درصورتی که مواد غذایی مورد نیاز برای باکتری‌های اسیدلاکتیک فراهم شود، آنها به سرعت رشد یافته و تعداد آنها افزایش می یابد که چنین روندی در مطالعه حاضر نیز مشاهده شده است.

در مجموع نتایج این مطالعه حاکی از آن است الیگوفروکتوز و مخمر غیرفعال کارایی بالایی در تغییر ترکیب میکروبیوتای روده ای و افزایش تعداد و نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک دارد که دارای اثرات پروبیوتیکی هستند. براساس نتایج بدست آمده پربیوتیک الیگوفروکتوز کارایی بیشتری جهت افزایش تعداد باکتری های اسید لاکتیک دارد. از این رو استفاده از سطح ۲ درصد از هریک از این پره-بیوتیک‌ها می توانند به عنوان مکمل مناسبی برای جیره غذایی فیل ماهی جهت افزایش سطوح باکتری‌های مفید مدنظر قرار گیرد.

منابع

اکرمی، ر.، ۱۳۸۷. اثرات اینولین به عنوان پربیوتیک بر رشد، بقاء و میکروفلور روده بچه فیل ماهی (*Huso huso*). رساله دکتری دانشگاه آزاد علوم و تحقیقات تهران، ۱۰۰ صفحه.

پورامینی، م.، حسینی فر، س.ح.، ۱۳۸۶. کاربرد پروبیوتیک ها و پربیوتیک ها در آبزی پروری، انتشارات موج سبز تهران، ۱۲۰ صفحه.

سوداگر، م.، آذری تاکامی، ق.، پانوماریف، س.، عابدیان کناری، ع.، حسینی، س.ع.، ۱۳۸۶. بررسی اثرات سطوح مختلف بتائین و متیونین به عنوان جاذب بر شاخص های رشد و بقاء فیل ماهی جوان (Huso huso). مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، تابستان، صفحات ۳۸-۳۳.

Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M. and Ismael, N. 2008. Evaluation of commercial live baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged *in situ* with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture 280*, 185-189.

Akrami, R., Iri, Y., Rostami, H.K., Razeghi Mansour, M. 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon

www.SID.ir

Archive of SID

Cai, Y., Suyanandana, P., Saman, P., Benno, Y. 1999. Classification and characterization of lactic acid bacteria isolated from the intestines of *common carp* and freshwater prawns. *The Journal of General and Applied Microbiology 45(4),*177-184.

Carmona, R., Domezain, A., Garcia-Gallego, M., Antonio Hernando, J., Rodriguez, F., Ruiz-Rejon, M. 2009. Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons. *Springer publication*, 467 p.

Collins, M. D., Gibson, G. R. 1999. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *American Society for Clinical Nutrition 69(5)*, 1052-1057.

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

Hansen, G. H., Olafsen, J. A. 1999. Bacterial Interactions in early life stages of marine Cold water Fish. *Microbial Ecology 38(1)*, 1-26.

Hoseinifar, S. H., Zare, P., Merrifield, D. L. 2010.The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian white shrimp larvae and post-larvae (*Fenneropenaeus indicus*). *Aquaculture Research 41(9)*, 348-352.

(*Acipenser stellatus*) juvenile. *Fish & Shellfish Immunology 35*, 1235-1239.

Askarian, F., Kousha, A., Shenavar, A., Ringe, E., Bahmani, M., Khorshidi, K., Matinfar, A. 2007. Isolation of lactic acid bacteria as probiotic from gastrointestinal tracts of Beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Proceeding of International Training Course on fish Nutrition and disease,* 5 September, Ghaemshahr, Iran, 27 P.

Birkbeck, T. H., Ringo, E. 2005. Pathogenesis and gastrointestinal tract of growing fish. In: Microbial Ecology in Growing Animals (eds.Holzapfel, W.; Naughton,P). pp. 208-234. *Elsevier, Edinburgh, UK,*.

Burr, G., Gatlin III, D., Ricke, S. 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society 36*, 425-436.

Chiu, C.H., Cheng, C.H., Gua, W.R., Guu, Y.K., Cheng, W. 2010. Dietary administration of the probiotic, *Saccharomyces cerevisiae* P13, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology 29 (6)*, 1053–1059.

www.SID.ir

Archive of SID

Linnaeus, C. 1758)..*Aquaculture 14(3)*, 219–229.

Mahious, A., Ollevier, F. 2005. *Probiotics and Prebiotics in Aquaculture*: Review.*Workshop on Techniques for Enrichment of live food for use in larviculture, Urmia*, Iran. pp.17-26.

Marteau, P., Flourie, B. 2001. Tolerance to low-digestible carbohydrates: symptomatology and methods. *British Journal of Nutrition 85*, S17–S21.

Merrifield, D. L., Dimitroglou , A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T.M., Bøgwald, J. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture 302*, 1-18.

Merrifield, M., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S., Baker, R., Bøgwald, J., Castex, M., Ringø, E. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture 302*, 1–18.

Mohseni, M., Ozorio, R.O.A., Pourkazemi, M., Bai, S. C. 2008. Effects of dietary L-carnitine supplements on growth and body in beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Journal of Applied Ichthyology 24*, 646-649.

Nayak, S. k. 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research 41(11)*, 1553-1573.

Olsen, R. E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M., Ringø, E. 2001. Damaging effect of dietary

Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Mojazi Amiri, B., Rostami, H.K., Merrifield, D. L. 2011. The effects of oligofructose on growth performance, survival and autochthonous intestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture Nutrition 17*, 498-504.

Keyvanshokooh, S., Ghasemi, A., Shahriari Moghadam, M., Nazari, R.M., Rahimpour, M. 2007. Genetic analysis of *Rutilus rutilus* caspicus (Jakowlew 1870) populations in Iran by microsatellite markers, *Aquaculture Research 38*, 953-956.

Kiabi, B. H., Abdoli, A., Naderi, M. 1999. Status of the fish fauna in the South Caspian basin of Iran. *Journal of Zoology in the Middle East 18*, 57-65.

Li, P., Burr, G., Gatlin, D., Hume, M.E., Patnaik, S., Castile, F.L., Lawrence, A. L. 2007. Dietary supplementations of short-chain fructooligosaccharides influences gastrointestinal microbiota composition and immunity characteristics of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*, cultured in a recirculating system. *American Society for Nutrition 137(12)*, 2763–2768.

Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R., Ollevier, F. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, (*Psetta maxima*

www.SID.ir

Archive of SID

Ringo, E., Olsen, R.E., Gifstad Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G. I. 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition 16*, 117e36.

Ringo, E., Dimitroglou, A., Hoseinifar, S.H., Davies, S. J. 2014. Prebiotics in finfish: an update. In: Aquaculture Nutrition: Gut Health, *Probiotics and Prebiotics* (eds. by Ringø, E. & Merrifield, D.), pp. 416. Wiley-Blackwell. New York.

Schley, P., Field, C. 2002. The immune enhancing effects of dietary fibers and prebiotics. *British Journal of Nutrition 87(2)*, 221-230.

Sealey, W. M., Barrows, F.T., Johansen, K.A., Overturf, K., LaPatra, S. E., Hardy, R.W. 2007. Evaluation of the ability of partially autolyzed yeast and Grobiotic-a to improve disease resistance in rainbow trout. *North American Journal of Aquaculture 69(4)*, 400– 406.

Sudagar, M., Hoseinifar, S. H., 2005. The use of Optimun in diet of grand sturgeon *Huso huso* fry and its effects on growth factors and survival rate. *Proceedings of the 5th international symposium on sturgeons*, Ramsar, Iran, 9-13 May, Page 93.

Sugita, H., Hirose, Y., Matsuo, N., Deguchi, Y. 1998. Production of the antibacterial substance by *Bacillus* sp. strain NM12, an intestinal bacterium of Japanese inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquaculture Research 32*, 931-934.

Peter, H., Sneath, A. 1986. *Bergeys manual of systematic Bacteriology*. Vol. 2, pp. 1104-1154.

Pourkazemi, M. 1997. The survey status of sturgeon fishes and their conservation in the Caspian Sea. *Iranian Journal Fisheries Science 3*, 13-22.

Razeghi Mansour, M., Akrami, R., Ghobadi, S.H., Amani Denji, K., Ezatrahimi, N., Gharaei, A. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Fish Physiology and Biochemistry 38*, 829-835.

Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P., 1998. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) survival and growth. *Aquaculture 167*, 301–313.

Ringo, E., Strom, E., Tabachek, J. A. 1995. Intestinal microflora of salmonids: a review. *Aquaculture Research 26*, 773-789.

Ringø, E., Sperstad, S., Myklebust, R., Mayhew, T. M., Olsen, E. 2006. The effect of dietary inulin on bacteria associated with hindgut of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquaculture Research* 37(9), 891–897.

www.SID.ir

Archive of SID

Williot, P., Sabeau, L., Gessner, J., Arlati, G., Bronzi, P., Gulyas, T., Berni, P. 2001. Sturgeon farming in Western Europe: recent developments and perspectives. *Aquatic Living Resources 14*, 367−374.

Yousefi, M., Abtahi, B., Kenari, A. 2012. Hematological, serum biochemical parameters, and physiological responses to acute stress of Beluga sturgeon (*Huso huso*, Linnaeus 1785) juveniles fed dietary nucleotide. *Comparative Clininical Pathology 21*, 1043-1048.

Zar, J. H., 1994. Biostatistical Analysis. *Prentice-Hall*, New Jersey, 662 p.

coastal fish. *Aquaculture 165*, 269–280.

Verscher, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Versteraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology Molecular Biology 64*, 655-671.

Welker, T., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R., Klesius, P. H. 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcompanents. *Journal of the World Aquaculture Society 38(1)*, 24-35.

www.SID.ir

Archive of SID

Comparative study of different levels of dietary oligofructose and inactive yeast on intestinal microbiota of beluga sturgeon *Huso huso* (Linnaeus, 1758)

Seyed Hossein Hoseinifar
Assistant Professor of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
*Corresponding author: Hoseinifar@gau.ac.ir
Received:06/11/2014 Accepted:1/02/2015

Abstract
The aim of this study was comparative study of the effects of two prebiotics, oligofructose and inactive yeast, on intestinal microbiota of beluga (*Huso huso*). The study was done in a completely randomize design include feeding beluga with diet contain 1 or 2% inactive yeast and 1 or 2% oligofructose as well as a control group (5 treatments in triplicates). Beluga (11.40±0.56 g) supplied, 35 specimens stocked in each fiberglass tanks and were fed for 6 weeks with experimental diets. At the end of trial total viable lactic acid bacteria (LAB) and their proportion was studied using culture based method. Our results showed that administration of oligofructose or inactive yeast had no significant effects on total viable bacteria compared control group ($P > 0.05$). The highest LAB levels was observed in 2% oligofructose or inactive yeast fed fish which was significantly higher than control ($P < 0.05$). The proportion of LAB to total viable bacteria was significantly elevated in all prebiotic fed fish ($P > 0.05$) and the highest proportion observed in 2% oligofructose fed beluga.

Keywords: Inactive yeast, Oligofructose, Intestinal microbiota, LAB, Beluga

www.SID.ir