

## اثرات جیره‌های گیاهی بر میزان بار باکتریایی و ترکیب جمعیت میکروبی روده فیل ماهی (*Huso huso*)

مریم روحی<sup>۱</sup>، ناصر آق<sup>۲</sup>، محمود رضازاد باری<sup>۳</sup>

۱) گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه- ایران

۲) گروه آرتمیوازی، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه دانشگاه ارومیه، ارومیه- ایران

۳) گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه- ایران

(دریافت مقاله: ۷ آبان ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۱۴ دی ماه ۱۳۹۴)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** در سال‌های اخیر، یافتن جایگزین مناسب بجای پودر ماهی جهت تأمین نیازهای صنعت تولید خوراک آبزیان در تحقیقات مد نظر گرفته شده است. هدف: هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات جایگزینی پودر و روغن ماهی با منابع گیاهی بر تعداد و ترکیب جمعیت باکتریایی محتویات و موکوس روده فیل ماهی می‌باشد. روش کار: برای این منظور فیل ماهیان با میانگین وزنی  $133 \pm 5g$  در ۱۸ مخزن پرورشی (۳۰۱) با تراکم ۳۰ قطعه در هر مخزن و به مدت ۶۰ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. منبع پروتئین و روغن در جیره گروه شاهد شامل پودر و روغن ماهی بود و جیره‌های آزمایشی به ترتیب از صفر، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ پروتئین‌های گیاهی (گلوتن گندم، گلوتن ذرت و کنجاله سویا) و ۲۰٪ روغن‌های گیاهی (کلزا، آفتابگردان، بذرتان و روغن گلرنگ) تشکیل گردیدند. نتایج: جایگزینی پودر ماهی تا ۸۰٪ به همراه جایگزینی ۸۰٪ روغن ماهی با منابع گیاهی اختلاف معنی‌داری در شاخص وزن نهایی ماهیان ( $235 \pm 17g$ ) پس از ۶۰ روز تغذیه با جیره‌های آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد نداشت ( $p > 0.05$ ). جایگزینی ۸۰٪ روغن ماهی و ۱۰۰٪ پودر ماهی با منابع گیاهی باعث کاهش معنی‌دار وزن نهایی ماهیان شد ( $p < 0.05$ ). جایگزینی ۸۰٪ روغن ماهی با روغن‌های گیاهی سبب کاهش معنی‌دار بار باکتریایی محتویات روده ماهیان و افزایش معنی‌دار درصد باکتری‌های جنس انتروباکتریاسه شد ولی در بار باکتریایی موکوس روده آنها در تیمارهای آزمایشی و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. جایگزینی ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ پودر ماهی به همراه ۸۰٪ روغن ماهی با منابع گیاهی باعث کاهش معنی‌دار بار باکتریایی محتویات و موکوس روده ماهیان در مقایسه با گروه شاهد گردید ( $p < 0.05$ ) و نیز این جایگزینی سبب تغییر ترکیب باکتریایی روده گردید. نتیجه گیری نهایی: استفاده از منابع پروتئین گیاهی باعث کاهش بار باکتریایی محتویات و موکوس روده فیل ماهیان جوان و تغییر ترکیب فلور باکتریایی آن می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** جمعیت باکتریایی، فیل ماهی، پودر ماهی، بار باکتریایی، منابع گیاهی

### مقدمه

برای مصارف انسانی حدود ۱۱۰ میلیون تن در سال ۲۰۱۰ و سهم آبی پروری در تولید کل جهانی ۳۸٪ می‌باشد. با توجه به بالا بودن میزان تولید در برخی گونه‌ها و آسان بودن تولید آبزیان در مقایسه با سایر فرآورده‌های پروتئینی و بالا بودن ارزش غذایی آنها، امروزه آبی پروری به عنوان یکی از سریع‌الرشدترین فعالیت‌های مؤثر در افزایش تولید غذا مورد توجه قرار گرفته است (۱۱).

با توجه به اینکه در سال‌های اخیر میزان برداشت از منابع دریایی روند ثابت و تقریباً نزولی داشته است، یافتن جایگزین مناسب بجای پودر ماهی جهت تأمین نیازهای صنعت تولید خوراک آبزیان برای تداوم رشد و توسعه صنعت آبی پروری در سال‌های آینده و همچنین حفظ منابع دریایی برای آیندگان امری اجتناب‌ناپذیر است پروتئین‌ها و روغن‌های گیاهی در مقایسه با منابع حیوانی ارزاتر و قابل دسترس‌تر می‌باشند، می‌توان با جایگزینی بخشی از منابع پروتئین و چربی جیره غذایی آبزیان با منابع گیاهی هزینه‌های غذا و وابستگی صنعت آبی پروری به پودر ماهی و روغن ماهی را کاهش داد منابع پروتئین گیاهی می‌توانند به صورت نسبی یا بطور کامل جایگزین پودر ماهی در جیره غذایی آبزیان پرورشی شوند به شرطی که نیاز اسیدهای آمینه گونه آبی مورد نظر را تأمین نموده و

ماهیان خاویاری یکی از با ارزش‌ترین گونه‌های آبزیان بشمار می‌روند که از قدمت بسیار طولانی برخوردار هستند و بعلت این سابقه "فسیل زنده" نام گرفته‌اند. در حاضر بیش از ۲۷ گونه از انواع تاس ماهیان در آبهای جهان زیست می‌نمایند. به اعتقاد کلیه متخصصین و کارشناسان علوم شیلاتی، پرورش ماهیان خاویاری در ایران از امتیازهای ویژه‌ای از قبیل مشهوریت نام خاویار ایران نیم قرن تجربه در تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری، دستاوردهای متعدد پروژه‌های تحقیقاتی، وجود گونه‌های بومی سریع‌الرشد، پائین بودن هزینه‌های تولید در مقایسه با سایر کشورهای جهان شرایط آب و هوایی مناسب و همچنین نام دریای خزر و غیره... برخوردار است و معروفیت برند تجاری خاویار ایران که ناشی از کیفیت برتر خاویار دریای خزر می‌باشد اهمیت و ضرورت توسعه پرورش ماهیان خاویاری را در کشور گوشزد می‌کند.

آبی پروری در راستای تأمین نیازهای غذایی انسان و استفاده از مواد پروتئینی با منشأ حیوانی که کیفیت مطلوب دارند از اهمیت بسزایی برخوردار است. مطابق برآورد سازمان خواروبار جهانی، میزان تقاضای ماهی



## مواد و روش کار

**تهیه ماهیان و آماده سازی جیره های غذایی:** تعداد ۵۴۰ قطعه فیل ماهی با میانگین وزنی متوسط  $133 \pm 5$  g از مرکز تکثیر و پرورش شهید مرجانی تهیه و به سالن تکثیر و پرورش ماهیان منتقل گردید. ماهیان پس از گذراندن یک هفته دوره سازگاری ابتدا با محلول ۰.۴٪ نمک ضد عفونی و پس از رقم بندی، به طور تصادفی در ۱۸ حوضچه فایبرگلاس با حجم آبیگری ۲۵۰۱ با تراکم ۳۰ عدد ماهی در هر حوضچه ذخیره سازی شدند. منبع پودر ماهی و روغن ماهی مورد استفاده در جیره شاهد و جیره های آزمایشی از ماهی کیلکا تهیه گردید و از گلوتن گندم به همراه گلوتن ذرت و کنجاله سویا در سطوح ۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ به عنوان منابع پروتئین گیاهی در جیره های آزمایشی جهت جایگزینی پودر ماهی استفاده شد. روغن گیاهی مورد استفاده در این مطالعه نیز ترکیبی از روغن های گیاهی کلزا ۳۰٪، آفتابگردان ۳۰٪، بزرک ۳۰٪ و گلرنگ ۱۰٪ بود که در سطح ۸۰٪ جایگزین روغن ماهی شد. همچنین، ترکیب مکمل مورد استفاده در جیره های آزمایشی شامل: ویتامین A ۱۶۰۰۰۰۰، ویتامین D<sub>3</sub> ۳۴۰۰۰۰۰، کولین کلراید ۱۲۰۰۰، نیاسین ۴۰۰۰، ربیوفلاوین ۸۰۰۰، پیریدوکسین ۴۰۰۰، فولیک اسید ۲۰۰۰، ویتامین B<sub>12</sub> ۸۰۰۰، بیوتین ۱ mg، اینوزیتول ۲۰۰۰۰، ویتامین C ۶۰۰۰۰، ویتامین B<sub>2</sub> ۸۰۰۰، ویتامین K<sub>2</sub> ۲۰۰۰، ویتامین E ۴۰۰۰۰ (یا mg / kg IU غذا)، روی ۱۲/۵، آهن ۲۶، منگنز ۱۵/۸، مس ۴/۲، کبالت ۰/۴۸، سلنیوم ۲، ید (۱ g/kg غذا) بودند که میزان جایگزینی روغن و پودر ماهی با منابع گیاهی در جدول ۱ گزارش گردیده است.

پس از آنالیز شیمیایی اجزای سازنده جیره طبق روش استاندارد (AOAC, ۱۹۹۰)، جیره های آزمایشی طبق احتیاجات غذایی فیل ماهی به کمک نرم افزار WUFFDA نوشته شدند (جدول ۲). تمامی جیره ها از میزان پروتئین (۴۵٪)، چربی (۲۰٪) و انرژی ( $\Delta kcal/g$ ) یکسانی برخوردار بودند. اجزای جیره پس از آسیاب شدن، با یکدیگر مخلوط و سپس بوسیله چرخ گوشت صنعتی به صورت پلت هایی با قطر ۴-۵ mm درآمدند. پلت ها در دمای آون  $50^{\circ}C$  خشک گردیده و تا زمان مصرف در یخچال ( $4^{\circ}C$ ) نگهداری شدند.

در طول دوره پرورش میزان pH آب ورودی  $7.5 \pm 0.2$ ، دما  $19.5 \pm 1^{\circ}C$ ، اکسیژن محلول  $5.0 \pm 0.5 mg/l$  و دبی آب ورودی مخازن  $1/5 \pm 0.7 min$  بود. غذادهی ماهیان برحسب ۲-۳٪ وزن بدن و روزانه در سه نوبت به مدت ۶۰ روز انجام گردید. زیست سنجی ماهیان جهت محاسبه میزان رشد در ابتدا و انتهای دوره پرورش با توزین تمامی ماهیان موجود در هر واحد آزمایشی (مخزن) صورت گرفت. همچنین تعیین وزن توده زنده ماهیان هر مخزن جهت تعیین میزان غذای روزانه با فواصل ۱۰ روز انجام گردید. در پایان دوره پرورش جهت بررسی فلور میکروبی دستگاه گوارش ماهیان، تعداد ۳ عدد ماهی از هر تکرار به طور تصادفی صید شد. پس از باز

سبب کاهش طعم و خوش خوراکی غذا نگردد، همچنین بایستی میزان عناصر ضد مغذی منابع گیاهی کاهش یابد (۷). تغییر جیره غذایی باعث تغییرات بافتی و عملکردی مجرای گوارشی می گردد. اثرات مشاهده شده شامل تغییرات در ساختمان سیستم گوارشی، التهاب، کاهش رشد همزمان با هضم و جذب غذا و افزایش قابلیت ابتلا به بیماریها می باشد (۱۵). از دلایل بروز این تغییرات می توان به تأثیرات مستقیم فاکتورهای ضد مغذی موجود در ترکیبات گیاهی و یا اثرات غیرمستقیم تغییرات رژیم غذایی در ساختار و عملکرد فلور میکروبی روده اشاره نمود (۲۲). ترکیبات گیاهی مثل کنجاله های سویا، کانولا و نخود در تولید منابع غذایی آبزیان استفاده می شوند که حاوی برخی عناصر ضد تغذیه ای مثل فیتات، ساپونین، پلی فنل و تانن، لاتیروزن و آلفاگالاکتوزید و بازدارنده تریپسین می باشند (۹). بنابراین ترکیبات گیاهی که دارای این ضد مغذی ها هستند می توانند باعث کاهش جمعیت میکروبی روده گردند (۷). هر چند هنوز اثرات این ترکیبات بر فیزیولوژی روده و فلور میکروبی روده ماهیان بطور کامل شناخته شده نیست. چون تعداد اندکی از محققین اثرات جایگزینی پودر ماهی با منابع گیاهی را بر فلور روده ماهیان بررسی کرده اند و گزارشات بسیار کمی در این زمینه وجود دارد. همچنین مکانیسمی که باعث التهاب روده می گردد هنوز شناخته نشده است. فاکتورهای ضد تغذیه ای منابع پروتئین گیاهی باعث ایجاد تغییرات بافتی و مورفولوژیکی مانند افزایش طول روده، کوتاه شده پرزها و ریزپرزه ها در روده ماهیان می شوند. همچنین استفاده از پروتئین های گیاهی باعث کاهش سلول های اپیتلیال روده و کوتاه شدن پرزهای آن می شود و مکان اتصال باکتری ها به روده را کاهش می دهد. این امر در طولانی مدت منجر به کاهش بار باکتریایی روده می شود. دستگاه گوارش، گستره وسیع و متنوعی از انواع میکروفلور را در خود جای می دهد که نقش تعیین کننده ای در صحت اعمال و مکانیسم دفاعی روده ایفا می کنند (۱۴، ۱۵). فلور میکروبی روده می تواند برخی مواد مغذی که میزبان قادر به هضم آنها نیست را متابولیزه کرده و به محصولات نهایی قابل هضم تبدیل نماید، که این فرآیند بر کارایی فیزیولوژیکی دستگاه گوارش موجود تأثیر مستقیم می گذارد (۲۳). نتایج مطالعات پیشین نشان داده است که استفاده از سطوح بالای منابع مختلف پروتئین گیاهی علاوه بر تأثیر منفی روی رشد ماهیان، بر روی میکروفلور طبیعی روده تأثیر گذاشته و سبب کاهش بار باکتریایی روده ماهیان می گردد (۲۲، ۱۸، ۵). علیرغم این یافته ها جایگزینی پودر و روغن ماهی با منابع گیاهی از جنبه های اقتصادی و اکولوژیکی به عنوان ضرورتی برای توسعه پایدار صنعت آبی پروری منجمله پرورش ماهیان خاویاری مطرح شده است. ولی مطالعات بسیار محدودی در این زمینه و بخصوص بر روی ماهیان خاویاری صورت گرفته است. لذا در این مطالعه به بررسی اثرات جایگزینی پودر و روغن ماهی با منابع گیاهی بر بار باکتریایی و تنوع باکتریایی روده فیل ماهیان جوان پرداخته شد.



جدول ۱. میزان (%) منابع پروتئین و روغن مورد استفاده در بین گروه‌های آزمایشی.

گروه‌های آزمایشی	منابع پروتئین		منابع روغن	
	پودر ماهی	پروتئین گیاهی	روغن ماهی	روغن‌های گیاهی
۱	۱۰۰٪	-	۱۰۰٪	-
۲	۱۰۰٪	-	۲۰٪	۸۰٪
۳	۶۰٪	۴۰٪	۲۰٪	۸۰٪
۴	۴۰٪	۶۰٪	۲۰٪	۸۰٪
۵	۲۰٪	۸۰٪	۲۰٪	۸۰٪
۶	-	۱۰۰٪	۲۰٪	۸۰٪

روغن ماهی با ترکیب روغن‌های گیاهی (تیمار ۲) سبب کاهش معنی‌دار میزان بار باکتریایی در مقایسه با گروه شاهد گردید ( $p < 0/05$ ). جایگزینی سطوح مختلف پودر ماهی ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ پودر ماهی به همراه ۸۰٪ روغن ماهی با منابع گیاهی (تیمارهای ۳، ۴، ۵ و ۶) باعث کاهش معنی‌دار بار باکتریایی محتویات روده فیل ماهیان در مقایسه با گروه شاهد گردید ( $p < 0/05$ ). نتایج حاصل از شمارش تعداد کلنی باکتریایی در موکوس روده ماهیان خاویاری نشان داد که جایگزینی ۸۰٪ روغن ماهی با ترکیب روغن‌های گیاهی (تیمار ۲) اختلاف معنی‌داری را در میزان بار باکتریایی در مقایسه با گروه شاهد نداشت ( $p > 0/05$ ). جایگزینی سطوح مختلف پودر ماهی ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ به همراه ۸۰٪ روغن ماهی با منابع گیاهی (تیمارهای ۳، ۴، ۵ و ۶) باعث کاهش معنی‌دار بار باکتریایی موکوس روده فیل ماهیان در مقایسه با گروه شاهد گردید ( $p < 0/05$ ).

**شناسایی باکتری‌های محتویات روده:** نتایج حاصل از شناسایی ترکیب باکتری‌های جدا شده از محتویات روده ماهیان در انتهای دوره پرورش نشان داد جایگزینی ۸۰٪ روغن ماهی با ترکیب روغن‌های گیاهی (تیمار ۲) سبب افزایش معنی‌دار باکتری‌های جنس *Enterobacteriaceae* ( $14/5 \pm 0/5$ ٪) در مقایسه با گروه شاهد ( $11 \pm 2/4$ ٪) می‌گردد ( $p < 0/05$ ). ولی تفاوت معنی‌داری در نسبت باکتری‌های باسیل گرم منفی (*Aeromonas*)، باسیل گرم مثبت (*Corynebacterium*) و کوکسی‌های گرم مثبت (*Micrococcus* و *Enterococcus*) با جایگزینی ۸۰٪ روغن ماهی با ترکیب روغن‌های گیاهی در روده ماهیان مشاهده نگردید ( $p > 0/05$ ).

جایگزینی ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ پودر ماهی به همراه ۸۰٪ روغن ماهی با منابع گیاهی (گروه‌های آزمایشی ۴، ۵ و ۶) سبب افزایش معنی‌دار باکتری‌های جنس *Corynebacterium* (بترتیب،  $21 \pm 0/8$ ،  $22 \pm 1/8$  و  $16/8 \pm 1/1$ ٪) و *Micrococcus* (بترتیب،  $44 \pm 4/4$ ،  $45 \pm 1/6$  و  $47/9 \pm 3/4$ ٪) در مقایسه با گروه شاهد (بترتیب،  $10 \pm 1/4$  و  $27 \pm 3/2$ ٪) گردید. همچنین جنس‌های *Aeromonas* (بترتیب،  $16 \pm 2/1$ ،  $12/7 \pm 1/5$  و  $11/7 \pm 1/7$ ٪) و *Enterobacteriaceae* (بترتیب،  $6 \pm 0/8$ ،  $6 \pm 1/8$  و  $6/7 \pm 1/5$ ٪) در این تیمارها در مقایسه با گروه شاهد (بترتیب،  $36 \pm 2/9$  و  $11 \pm 2/4$ ٪) بطور معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0/05$ ). تفاوت معنی‌داری در ترکیب باکتری‌های *Enterococcus* روده در بین گروه‌های آزمایشی

شدن ناحیه شکمی در شرایط استریل و در کنار شعله از محتویات و موکوس روده خلفی ماهیان نمونه برداری گردید.

جهت بررسی باکتری‌های موجود در موکوس دیواره روده، ابتدا محتویات روده تخلیه گردید، سپس در سرم فیزیولوژی استریل چند بار شستشو داده شد، بعد از شستشو دادن روده، موکوس دیواره روده بوسیله تیغ اسکالپل استریل به آرامی جمع آوری گردید. سپس ۱g از محتویات روده و موکوس جهت تهیه رقت‌های ( $10^{-6}$  تا  $10^{-1}$ ) به لوله‌های آزمایش محتوی ۹ml سرم فیزیولوژی استریل انتقال داده شد. بعد از همگن شدن محتویات روده با سرم فیزیولوژی از رقت‌های به دست آمده مقدار  $100 \mu\text{l}$  داخل پلیت استریل ریخته شد و به آنها محیط کشت استریل LB آگار اضافه گردید پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای  $20^\circ\text{C}$ ، داخل انکوباتور نگه داری شدند. جهت بررسی بار باکتریایی روده ماهیان مورد مطالعه ابتدا شمارش کلنی‌ها بصورت چشمی انجام گرفت. بعد از شمارش پرگنه‌ها و اطمینان از خلوص آنها جهت شناسایی باکتری‌ها رنگ آمیزی گرم و تست‌های مختلف بیوشیمیایی به روش Holt صورت پذیرفت (۵). شناسایی باکتری‌ها در حد جنس با مراجعه به کتاب *bergey's manual of systematic bacteriology* انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) در محیط نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) انجام گردید. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه دانکن (Duncan) در سطح ۹۵٪ انجام شد ( $p < 0/05$ ). همچنین از روش کولموگراف - اسمیرنوف جهت نرمال کردن داده‌های غیرنرمال استفاده گردید.

## نتایج

**شاخص‌های رشد:** نتایج حاصل از شاخص‌های وزن اولیه و وزن نهایی ماهیان در جدول ۳ گزارش شده است. بر اساس نتایج حاصله جایگزینی سطوح مختلف پودر ماهی تا ۸۰٪ با ترکیب منابع پروتئین گیاهی به همراه جایگزینی ۸۰٪ روغن ماهی با ترکیب روغن‌های گیاهی اختلاف معنی‌داری در شاخص وزن نهایی ماهیان ( $253 \pm 17$ g) پس از ۶۰ روز با گروه شاهد ( $256/1 \pm 10$ g) دیده نشد ( $p > 0/05$ ). همچنین شاخص وزن نهایی ماهیان با افزایش سطح جایگزینی پودر ماهی از ۸۰٪ به ۱۰۰٪ (گروه آزمایشی ۶،  $225/7 \pm 11$ g) در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی و همچنین گروه شاهد بطور معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0/05$ ).

**شمارش تعداد باکتری‌های محتویات و موکوس روده:** نتایج مربوط به تعداد کلنی باکتریایی در محتویات و موکوس روده فیل ماهی در انتهای دوره پرورش در جدول ۴ گزارش گردیده است. تعداد کلنی باکتریایی در محتویات روده فیل ماهی در روز صفر در بازه  $10^4 \times 4/96$  تا  $10^4 \times 5/33$  بود. نتایج حاصل از شمارش تعداد کلنی باکتریایی محتویات روده فیل ماهیان پس از ۸ هفته تغذیه با جیره حاوی ۱۰۰٪ پودر ماهی و جایگزینی ۸۰٪



جدول ۲. ترکیب اجزای غذایی گروه‌های آزمایشی (درصد از کل غذا).

تیمار ۶	تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱ (شاهد)	اجزاء غذایی
-	۱۰/۵	۲۱	۳۱/۵	۵۲/۵	۵۲/۵	پودر ماهی
۱۸	۱۴/۴	۱۰/۸	۷/۲	-	-	گلوتن ذرت
۲۰	۱۶	۱۲	۸	-	-	گلوتن گندم
۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	پودر گوشت
۱	۱	۱	۱	۱	۱	پودر خون
۱/۹۳	۱/۷۱	۱/۵۴	۱/۳۷	۱/۰۴	۵/۲۱	روغن ماهی
۷/۷۳	۶/۸۳	۶/۱۶	۵/۵	۴/۱۶	-	روغن گیاهی
۲۲	۱۷/۶	۱۳/۲	۸/۸	-	-	کنجاله سویا
-	۳	۶	۹	۱۵	۱۵	آرد گندم
-	۱/۱۱	۱/۸۷	۲/۶۵	۴/۰۴	۴/۰۴	نشاسته
۱	۱	۱	۱	۱	۱	مخمر
۲	۲	۲	۲	۲	۲	اسید سیتریک
-	-	۰/۱۵	۰/۳	۰/۵۶	۰/۵۶	آنزیمیت
۲/۷	۲/۷	۲/۷	۲/۷	۲/۷	۲/۷	مکمل ویتامینی و معدنی
۴	۴	۴	۴	۴	۴	مکمل پروتئینی
۰/۶	۰/۵	۰/۳۵	۰/۲۵	-	-	ال-میتوئین
۱/۵	۱/۲	۰/۹	۰/۵	-	-	ال-لیزین
۵/۵۴	۴/۴۵	۳/۳۳	۲/۲۳	-	-	دی کلسیم فسفات

جدول ۳. شاخص‌های رشدی فیل ماهیان پس از ۸ هفته تغذیه با جیره‌های آزمایشی. مقادیر نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف از معیار سه تکرار از هر تیمار می‌باشند. اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار است ( $p < 0.05$ ).

تیمار ۶	تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار شاهد	
۱۳۴/۵ $\pm$ ۷ <sup>a</sup>	۱۳۴/۴ $\pm$ ۴ <sup>a</sup>	۱۳۷/۸ $\pm$ ۶ <sup>a</sup>	۱۳۶/۸ $\pm$ ۶ <sup>a</sup>	۱۳۶/۶ $\pm$ ۴ <sup>a</sup>	۲/۱۳۳ $\pm$ ۵ <sup>a</sup>	میانگین وزن اولیه (g)
۲۲۵/۷ $\pm$ ۱۱ <sup>b</sup>	۲۵۳ $\pm$ ۱۷ <sup>a</sup>	۲۵۶/۷ $\pm$ ۱۰ <sup>a</sup>	۲۶۶/۲ $\pm$ ۱۴ <sup>a</sup>	۲۷۵ $\pm$ ۱۵ <sup>a</sup>	۲۵۶/۱ $\pm$ ۱۰ <sup>a</sup>	میانگین وزن نهایی (g)

جدول ۴. تعداد کلنی باکتریایی محتویات و موکوس روده فیل ماهیان در انتهای دوره پرورش (میانگین  $\pm$  انحراف از معیار). مقادیر نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف از معیار سه تکرار از هر تیمار می‌باشند. اعداد در هر ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار است ( $p < 0.05$ ).

تیمار ۶	تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار شاهد	
۰/۱۹ $\times$ ۱۰ <sup>۳</sup> $\pm$ ۵/۵ <sup>c</sup>	۰/۲ $\times$ ۱۰ <sup>۴</sup> $\pm$ ۱/۳ <sup>d</sup>	۱/۱ $\times$ ۱۰ <sup>۴</sup> $\pm$ ۵/۶ <sup>c</sup>	۱/۷ $\times$ ۱۰ <sup>۵</sup> $\pm$ ۵/۱ <sup>b</sup>	۲/۴ $\times$ ۱۰ <sup>۵</sup> $\pm$ ۵/۶ <sup>b</sup>	۰/۸۵ $\times$ ۱۰ <sup>۶</sup> $\pm$ ۴/۴ <sup>a</sup>	محتویات روده
۰/۴۹ $\times$ ۱۰ <sup>۷</sup> $\pm$ ۰/۹ <sup>c</sup>	۰/۰۰۹ $\times$ ۱۰ <sup>۷</sup> $\pm$ ۰/۹۹ <sup>bc</sup>	۰/۰۰۷ $\times$ ۱۰ <sup>۷</sup> $\pm$ ۱/۰ <sup>bc</sup>	۰/۶۲ $\times$ ۱۰ <sup>۷</sup> $\pm$ ۱/۱ <sup>b</sup>	۰/۱۵ $\times$ ۱۰ <sup>۷</sup> $\pm$ ۱/۳ <sup>a</sup>	۰/۱۷ $\times$ ۱۰ <sup>۷</sup> $\pm$ ۱/۵ <sup>a</sup>	موکوس روده خلفی

مشاهده نگردید ( $p > 0.05$ ).

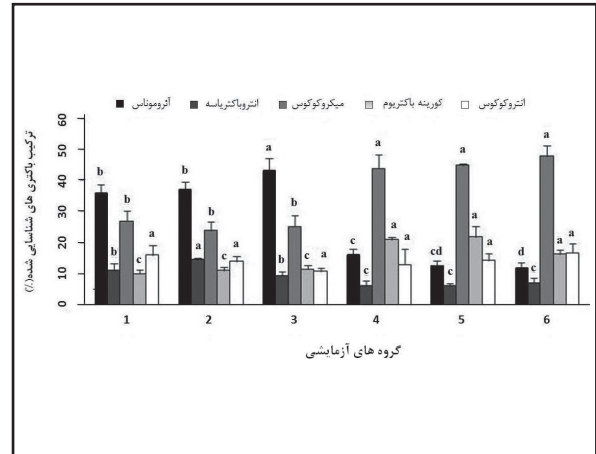
آزمایشی ۳ سبب کاهش معنی دار جنس *Aeromonas* (۳۳/۴۳  $\pm$  ۱/۵) و افزایش معنی دار جنس *Corynebacterium* (۲۵/۴  $\pm$  ۱) در مقایسه با گروه شاهد گردید ولی اختلاف معنی داری در تعداد باکتری‌های جنس *Micrococcus* (۴۱/۱۵  $\pm$  ۱/۰۳) مشاهده نشد. جایگزینی ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ پودر ماهی به همراه ۸۰٪ روغن ماهی با منابع گیاهی (گروه‌های آزمایشی ۴، ۵ و ۶) سبب افزایش معنی دار باکتری‌های جنس *Corynebacterium* (بترتیب، ۳۲/۹  $\pm$  ۱/۴۱، ۳۵/۴  $\pm$  ۱/۸ و ۳۲/۱۳  $\pm$  ۲/۷) در مقایسه با گروه شاهد (۱۳/۱۹  $\pm$  ۰/۷۵) گردید. همچنین باکتری‌های جنس *Aeromonas* در تیمارهای ۴، ۵ و ۶ (بترتیب، ۱۸/۵۶  $\pm$  ۲/۲۰، ۳/۱۹  $\pm$  ۱۹/۱۱ و ۱۳/۳۷  $\pm$  ۰/۷۵) در مقایسه با گروه شاهد (۴۶/۸۶  $\pm$  ۲/۸) بطور معنی داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ).

شناسایی باکتری‌های موکوس روده: نتایج حاصل از شناسایی باکتری‌های جدا شده از موکوس روده ماهیان در انتهای دوره پرورش نشان داد جایگزینی ۸۰٪ روغن ماهی با ترکیب روغن‌های گیاهی (تیمار ۲) سبب کاهش معنی دار باکتری‌های جنس *Aeromonas* (۳۹/۹  $\pm$  ۲/۴۵) در مقایسه با گروه شاهد (۴۶/۸۶  $\pm$  ۲/۸) ( $p < 0.05$ ) و افزایش معنی دار باکتری‌های جنس *Corynebacterium* (۱۸/۱۶  $\pm$  ۱/۷۵) در مقایسه با گروه شاهد (۱۳/۲  $\pm$  ۰/۷۶) گردید ( $p < 0.05$ ). نتایج به دست آمده از این مطالعه همچنین نشان داد که جایگزینی ۸۰٪ روغن ماهی اختلاف معنی داری در ترکیب باکتری‌های جنس *Micrococcus* (۴۱/۸۶  $\pm$  ۳/۶) نسبت به گروه شاهد ایجاد نمی‌کند (۳۹/۹  $\pm$  ۲/۴) ( $p > 0.05$ ). جایگزینی ۴۰٪ پودر ماهی به همراه ۸۰٪ روغن ماهی در گروه

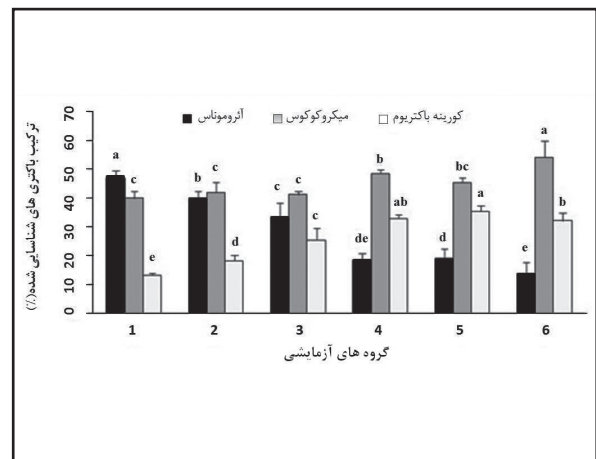


و ترکیب کنجاله‌های سویا و کانولا در تاس ماهی سیبری *Acipenser baerii* نشان می‌دهد که جایگزینی ۶۳٪ پودر ماهی با منابع گیاهی باعث کاهش شاخص‌های رشد ماهیان می‌شود (۱۶). همچنین جایگزینی ۳۷/۵٪ پودر ماهی و ۱۰۰٪ روغن ماهی با منابع گیاهی در جیره تاس ماهی روسی *Acipenser gueldenstaedtii* باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشد ماهیان می‌گردد (۲۴). در مطالعه حاضر از منابع پروتئین گیاهی با کیفیت مناسب حاوی حداقل میزان عناصر ضد تغذیه‌ای استفاده گردید. به همین دلیل ماهیان توانستند در حد بهینه و مطلوب از پروتئین‌های گیاهی استفاده نمایند. همچنین کاهش رشد در گروه تغذیه شده با ۱۰۰٪ جایگزینی پودر ماهی با منابع پروتئین گیاهی بدلیل کاهش جذابیت غذایی و استفاده کمتر ماهیان از غذا بوده است. بنابراین با توجه به حساسیت فیل ماهیان در استفاده از غذا توصیه می‌شود در مطالعات آتی از جاذب‌های غذایی مختلف به همراه استفاده از منابع گیاهی در جیره فیل ماهیان استفاده گردد.

نتایج حاصل از شمارش بار باکتریایی پس از ۸ هفته تغذیه ماهیان با جیره‌های آزمایشی نشان داد که افزایش منابع گیاهی در جیره باعث کاهش بار باکتریایی و تغییر میکروفلور روده فیل ماهیان می‌گردد. که با نتایج مطالعات پیشین که به بررسی اثرات جایگزینی کنسانتره پروتئین‌های گیاهی سویا، کانولا و نخود بر تغییر فلور باکتریایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرداختند مطابقت دارد (۶). این محققین اظهار داشتند که جایگزینی پودر ماهی با منابع گیاهی سبب تغییر میکروفلور روده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌گردد. همچنین اظهار داشتند کنسانتره‌های پروتئینی منابع گیاهی به دلیل کاهش مواد ضد تغذیه‌ای در فرآیند تولید اثرات آسیب‌شناسی کمتری را در مقایسه با کنجاله‌های گیاهی دارا هستند (۲) و جایگزینی ۳۲٪ کنجاله سویا به جای پودر ماهی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تفاوت معنی‌داری در میزان بار باکتریایی روده ماهیان نکرد ولی با افزایش میزان جایگزینی به ۵۰٪، بار باکتریایی روده ماهیان بطور معنی‌داری کاهش یافت (۱۷). نتایج مطالعات قبلی حاکی از تأثیرات منفی رشد (۲۲، ۲۱، ۲۰) و کاهش بار باکتریایی روده ماهیان (۲۵، ۲۰) با جایگزینی بیش از ۷۵٪ پودر ماهی جیره با پروتئین‌های گیاهی می‌باشد. همچنین مشخص شده است که جایگزینی پودر ماهی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با منابع گیاهی سبب تغییر ترکیب جمعیت میکروبی روده ماهیان می‌شود (۴). نتایج حاصل از مطالعه این محققین حاکی از کاهش تعداد جمعیت *Lactobacillaceae* از ۸۵۷٪ در ابتدای دوره پرورش به ۰٪ و تعداد باسیل‌های گرم منفی از ۳۱/۴٪ به ۲/۷٪ پس از تغذیه با گروه‌های آزمایشی در انتهای دوره پرورش بود که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. روش‌های سنتی وابسته به محیط کشت جهت بررسی ترکیب و میزان جمعیت باکتریایی روده دارای محدودیت می‌باشد، به این دلیل که بسیاری از میکروارگانیسم‌ها نمی‌توانند به راحتی در محیط کشت حاوی آگار رشد نمایند و تنها ۱۰-۰/۱٪ کل باکتری‌های موجود با



نمودار ۱. ترکیب باکتری‌های جدا شده از محتویات روده فیل ماهیان در انتهای دوره پرورش.



نمودار ۲. ترکیب باکتری‌های جدا شده از موکوس روده فیل ماهیان در انتهای دوره پرورش.

## بحث

بر اساس یافته‌های این تحقیق جایگزینی سطوح مختلف پودر ماهی و روغن ماهی تا ۸۰٪ با ترکیب منابع پروتئینی و روغن گیاهی در جیره غذایی منجر به کاهش شاخص‌های رشد در فیل ماهیان جوان نگردید. در مطالعات انجام شده محققان موفق به جایگزینی تنها بخش محدودی از پودر ماهی جیره با منابع گیاهی گردیده‌اند. در بررسی اثرات جایگزینی پودر ماهی با گلوتن ذرت و کنجاله کنجد در جیره غذایی فیل ماهی چنین نتیجه گیری شده است که جایگزینی حداکثر ۵۰٪ پودر ماهی با منابع گیاهی اثرات منفی را بر شاخص‌های رشدی ماهیان نداشته است (۱۲). همچنین جایگزینی پودر ماهی با کنجاله سویا به همراه ۳٪ اسید سیتریک در جیره غذایی فیل ماهی نشان داد که جایگزینی ۳۳٪ پودر ماهی با کنجاله سویا باعث کاهش شاخص‌های رشدی ماهیان می‌شود (۱۳). ولی در گروه‌هایی که ۳٪ اسید سیتریک در جیره ماهیان استفاده شده است جایگزینی ۳۳٪ پودر ماهی با کنجاله سویا اختلاف معنی‌داری به لحاظ شاخص‌های رشدی با گروه شاهد نداشت. بررسی اثرات جایگزینی پودر ماهی با کنجاله سویا





انواع جمعیت میکروبی را در خود جای می‌دهد که نقش تعیین کننده‌ای در صحت اعمال و مکانیسم دفاعی موجود ایفا می‌کنند. فلور میکروبی روده می‌تواند برخی مواد مغذی که میزبان قادر به هضم آنها نیست را متابولیزه کرده و به محصولات نهایی قابل هضم تبدیل نماید که این فرایند بر فیزیولوژی دستگاه گوارش تأثیر مستقیم می‌گذارد (۱۰). مهمترین نقش فلور میکروبی روده، مانع از استقرار باکتری‌های بیماریزا با منشأ خارجی در دستگاه گوارش است. مکانیسم پیشگیری از عوامل بیماریزا توسط فلور میکروبی روده، شامل رقابت در بدست آوردن مواد مغذی، تولید سم و برخی از ترکیبات (نظیر اسیدهای چرب آزاد، کاهش pH و باکتریوسین‌ها)، رقابت در اتصال به جایگاه‌های ویژه موجود بر روی اپی تلیال روده و تحریک سیستم ایمنی می‌باشد. این مکانیسم‌ها اختصاصی نبوده به نحوی که برخی میکروارگانیزم‌ها ممکن است یک و برخی دیگر چندین عملکرد را بر عهده داشته باشند (۸). می‌توان نتیجه گرفت با جایگزینی سطوح بالای پودر ماهی با منابع گیاهی، میزان بار باکتریایی روده ماهیان کاهش و ترکیب جمعیت میکروبی تغییر حاصل می‌کند که این امر در طولانی مدت ممکن است باعث کاهش رشد و مقاومت ماهیان در برابر عوامل بیماری‌زا و با استرس‌های محیطی گردد. بنابراین توصیه می‌شود در صورت استفاده از سطوح بالای منابع گیاهی در جیره غذایی فیل ماهی به جهت پیشگیری از بیماری‌ها و مدیریت بهداشتی و تغذیه‌ای از مکمل‌های پریبیوتیکی و پروبیوتیکی جهت بهبود ترکیب باکتریایی روده و ارتقای وضعیت سلامت موجود استفاده گردد تا پرورش این ماهی به لحاظ اقتصادی با موفقیت بیشتری انجام گیرد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این بررسی مراتب تقدیر و تشکر خود را از حمایت‌های مالی پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه و در اختیار گذاشتن امکانات آن پژوهشکده در جهت پیشبرد این مطالعه، ابراز می‌دارند.

### References

1. Amann, R.I., Ludwig, W., Schleifer, K.H., (1995) Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev.* 59: 143-169.
2. Anderson, R.L. Wolf, W.J. (1995) Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, and isoflavones related to soybean processing. *J Nutr.* 125: 581-588.
3. Baeverfjord, G., Kroghdahl, A. (1996) Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, distal

این روش قابل جداسازی و شناسایی می‌باشد (۱).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد ترکیب باکتریایی محتویات روده و موکوس روده ماهیان با یکدیگر تفاوت داشت و این تفاوت در مشاهده نشدن جنس انتروباکتریاسه در موکوس روده بود این نتایج با نتایج به دست آمده با مطالعه روی ترکیب باکتریایی روده گربه ماهی زرد مطابقت داشت (۲۳). همچنین این محقق اظهار داشتند ترکیب باکتریایی محتویات روده و موکوس روده در چند باکتری با هم تفاوت دارد، به این صورت که باکتری‌های محتویات روده شامل جنس‌های *Plesiomonas*, *Yersinia*, *Entrobacter*, *Shewanella* و *Aeromonas* بود و باکتری‌های جدا شده از موکوس روده شامل جنس‌های *Plesiomonas*, *Vibrio*, *Myroides*, *Aeromonas* و *Shewanella* بود. این تحقیق نشان می‌دهد که *Yersinia* و *Entrobacter* در موکوس روده شناسایی نشده‌اند و *Myroides* باکتری است که با وجود شناسایی آن در موکوس روده در محتویات آن مشاهده نگردیده است. ترکیب باکتریایی روده ماهیان از فاکتورهای مختلف محیطی تأثیر می‌پذیرد، این فاکتورها ممکن است شامل تغییرات محیطی، مراحل رشد و فیزیولوژی تغذیه و نوع جیره غذایی مورد استفاده می‌باشد (۲۵، ۴). استفاده از منابع پروتئین گیاهی در جیره غذایی ماهیان گوشتخوار سبب بروز تغییرات آسیب شناسی مختلف و نیز تغییرات کارکردی سلول‌های دیواره روده ماهیان می‌شود. اثرات مشاهده شده شامل تغییر ساختار روده، التهاب، کاهش رشد، همچنین هضم و جذب مواد مغذی و نیز افزایش خطر مواجهه در برابر عوامل بیماریزا می‌باشد (۱۴). این تغییرات به سبب اثرات مستقیم مواد ضد تغذیه‌ای موجود در منابع گیاهی و نیز اثرات غیر مستقیم اجزای غذایی که سبب تغییر ساختار و کارکرد فلور میکروبی روده می‌گردد، بوجود می‌آید (۲۲، ۲۰). منابع پروتئین گیاهی حاوی برخی عناصر ضد تغذیه‌ای مثل ساپونین، فیتات، گلوکوزینولات و بازدارنده آنزیم تریپسین می‌باشند (۸). مطالعات قبلی نشان داده است که منابع پروتئینی مثل کنجاله سویا و کنجاله کانولا می‌تواند حداکثر تا ۵۰٪ جایگزین شونند و منبع پروتئینی نخود می‌تواند حداکثر تا ۲۷٪ جایگزین شود بدون اینکه اثرات منفی روی رشد ماهی داشته باشند (۱۵). هر چند هنوز اثرات این ترکیبات بر فیزیولوژی روده و فلور میکروبی ماهیان بطور کامل شناخته شده نمی‌باشد. بررسی اثرات جایگزینی پودر ماهی با منابع گیاهی بر فلور روده ماهیان در مطالعات محققین کمتر پرداخته شده است و گزارشات بسیار کمی در این زمینه وجود دارد. همچنین مکانیسمی که باعث التهاب روده می‌گردد بطور کامل شناخته شده نیست. فاکتورهای ضد تغذیه‌ای منابع پروتئین گیاهی باعث ایجاد تغییرات بافتی و مورفولوژیکی مانند افزایش طول روده، کوتاه شده پرزها و ریزپرزها، کاهش نفوذپذیری غشاء روده و کاهش سلول‌های اپیتلیال روده شده و امکان اتصال باکتری‌ها به روده را کاهش می‌دهد. این امر در طولانی مدت منجر به کاهش بار باکتریایی روده می‌شود (۱۴، ۳). دستگاه گوارش، گستره وسیع و متنوعی از



- intestine: A comparison with the intestines of fasted fish. *J Fish Dis.* 19: 375-387.
4. Cahill, M.M. (1990) Bacterial flora of fishes: a review. *Microb Ecol.* 19: 21-4.
  5. Cappuccino, N., Mackay, R., Eisner, C. (2002) Spread of the invasive alien vine *Vincetoxicum rossicum*: trade-offs between seed dispersability and seed quality. *Am Mus Novit.* 148: 263-270.
  6. Desai, A.R., Links, M.G., Collins, S.A., Mansfield, G.S., Drew, M.D., Van Kessel, A.G., Hill, J.E. (2012) Effects of plant-based diets on the distal gut microbiome of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture.* 134: 350-353.
  7. Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K. (2001) Antinutritional factors present on plant-derived alternate fish feed ingredient and their effects in fish. *Aquaculture.* 199: 197-222.
  8. Fuller, R. (1977) The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. *Br Poult Sci.* 18: 85-94.
  9. Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G.S., Krogdahl, Å., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E. (2007) Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquac Res.* 38: 551-579.
  10. Gong, J., Forster, R.J., Yu, H., Chambers, J.R., Wheatcroft, R., Sabour, P.M., Chen, S. (2002) Molecular analysis of bacterial populations in the ileum of broiler chickens and comparison with bacteria in the caecum. *FEMS Microbiol. Ecol.* 41: 171-179.
  11. Hansen, A.C., Rosenlund, G., Karlsen, O., Koppe, W., Hemre, G.I. (2007) Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua*) I - Effects on growth and protein retention. *Aquaculture.* 272: 599-611.
  12. Jahanbakhshi, A., Imanpuor, M., Taghizadeh, V., Shabani, A. (2012) Effects of replacing fish meal with plant protein (Sesame oil cake and corn gluten) on growth performance, survival and carcass quality of juvenile beluga (*Huso huso*). *W J Fish Mar Sci.* 4: 422-425.
  13. Khajepour, F., Hosseini, S.A. (2012) Citric acid improves growth performance and phosphorus digestibility in Beluga (*Huso huso*) fed diets where soybean meal partly replaced fish meal. *Anim Feed Sci Technol.* 171: 68- 73.
  14. Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A.M., Røed, K.H., Baeverfjord G. (2000) Feeding Atlantic salmon *Salmosalar L.* soybean products: effects on disease resistance (furunculosis), and lysozyme and IgM levels in the intestinal mucosa. *Aquac Nutr.* 6: 77-84.
  15. Krogdahl, A., Penn, M., Thorsen, J., Refstie, S., Bakke, A.M. (2010) Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. *Aquac. Res.* 41: 333-344.
  16. Mazurkiewicz, J., Przybyl, A., Golski, J. (2009) Usability of some plant protein ingredients in the diets of Siberian sturgeon. *Acipenser baerii*. *Arch Pol Fish.* 17: 45-52.
  17. Merrifield, D.L., Bradley, G., Baker, R.T.M., Dimitroglou, A., Davies, S.J. (2009) Soybean meal alters autochthonous microbial populations, microvilli morphology and compromises intestinal enterocyte integrity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Fish Dis.* 32: 755-766.
  18. Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.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.
  19. Olsen, R.E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M., Ringo, E. (2001) Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus L.*). *Aquac Res.* 32: 931-934.
  20. Olsen, R.E., Hansen, A.C., Rosenlund, G., Hemre, G.I., Mayhew Gutierrez-Wing, M.T., Malone, R.F. (2006) Biological filters in aquaculture: Trends and research directions for freshwater and marine applications. *Aquac Eng.* 34: 163-171.
  21. Ringo, E., Strom, E., Tabachck, J.A. (1995) Intestinal microflora of Salmonids. A Review *Aquac Res.* 26: 773-789.



22. Ringo, E., Sperstad, S., Myklebust, R., Refstie, S., Krogdahl, Å. (2006) Characterisation of the microbiota associated with intestine of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.): The effect of fish meal, standard soybean meal and a bioprocessed soybean meal. *Aquaculture*. 261: 829-841.
23. Shangong, W., Tianheng, G., Yingzhen, Z., Weiwei, W., Yingyin, C., Guitang, W. (2010) Microbial diversity of intestinal contents and mucus in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquaculture*. 303: 1-7.
24. Sener, E., Yildiz, M., Savas, E. (2005) Effect of dietary lipid source on growth and fatty acid composition in Russian sturgeon (*Acipenser Gueldenstadtii*) Juveniles. *Turk J Vet Anim Sci*. 29: 1011-1107.
25. Verner-Jeffreys, D.W., Shields, R.J., Bricknell, I.R., Birkbeck, T.H. (2003) Changes in the gut-associated microflora during the development of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae in three British hatcheries. *Aquaculture*. 219: 21-42.





## Effects of plant-based diets on the bacterial counts and bacterial community composition of beluga sturgeon (*Huso huso*)

Roohi, M.<sup>1\*</sup>, Agh, N.<sup>2</sup>, Rezazadbari, M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

<sup>2</sup>Department of Artemia and Aquatic Animals, Urmia Lake Research Institute, Urmia University, Iran

<sup>3</sup>Department of Food industry, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran

(Received 29 October 2015, Accepted 4 January 2016)

### Abstract:

**BACKGROUND:** In recent years, many studies have been conducted on finding a suitable replacement for fish meal to supply the needs of aquaculture feed industry. **OBJECTIVES:** The present study was performed to examine the effect of replacing fish meal and fish oil with plant sources on bacterial counts in intestinal contents and mucus and bacterial composition in Beluga sturgeon. **METHODS:** Beluga sturgeons with a mean initial weight of  $133 \pm 5$  g were distributed into 18 (300 L) tanks (30fish/tank) and were fed experimental diets for 60 days. The control diet contained only fish meal and fish oil as the primary source of protein and lipid, while the experimental diets contained 0, 40, 60, 80 and 100 percent plant protein sources (wheat gluten, corn gluten and soybean meal) and 20% vegetable oil blend (canola, sunflower, cotton and safflower oils) respectively. **RESULTS:** Results showed that replacement of 80% fish meal and fish oil with plant sources didn't have significant effect on final weight ( $235 \pm 17$  g) compared to control group ( $256.1 \pm 10$  g) in a 60 days trial. Replacement of fish meal with 100% plant proteins in combination with 80% vegetable oils resulted in significantly lower final weight ( $225.7 \pm 11$  g), compared to other treatments including control group ( $p < 0.05$ ). Replacing 80% fish oil with vegetable oils resulted in a significant reduction of bacterial count in intestinal contents and a significant increase in percentage of Entrobacteriaceae sp. However, no significant differences were detected in bacterial counts of mucus in experimental treatments compared to control ( $p > 0.05$ ). Replacement of 60, 80 and 100% fish meal and 80% fish oil with plant sources significantly decreased bacterial counts in intestinal contents and intestinal mucosa compared to control group ( $p < 0.05$ ). Also this replacement cause significant change in bacterial composition of intestine. **CONCLUSIONS:** The results suggested that using plant sources in juvenile Beluga sturgeon diet decreases the bacterial count in the intestinal contents and mucus and changes the composition of intestinal micro flora.

**Keyword:** bacterial community, beluga sturgeon, fish meal, microbial counts, plant sources

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** The amount (%) of protein and oil sources used in the experimental groups.

**Table 2.** Combination of ingredients of experimental groups (percent of total food).

**Table 3.** Belugas growth indices after 8 weeks fed with experimental diet. The values represent the mean  $\pm$  SD of three replicates of each treatment. The numbers in each column with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Table 4.** The number of bacterial colonies in intestinal content and mucosa of the Beluga at the end of trial (mean  $\pm$  SD). The values represent the mean  $\pm$  SD of three replicates of each treatment. The numbers in each column with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Figure 1.** The combination of bacteria isolated from the Belugas intestinal contents at the end of period.

**Figure 2.** Combination of isolated bacteria from Belugas intestinal mucus at the end of trial.



\*Corresponding author's email: [goronika\\_mrp@yahoo.com](mailto:goronika_mrp@yahoo.com), Tel: 0443-3467097, Fax: 0443-3440295

J. Vet. Res. 71, 1, 2016