

بررسی تاثیر پری‌بیوتیک بايومین پی‌ای پی بر تعداد کل باکتری‌ها و باکتری‌های لاکتوباسیلوس روده لاشه ماهی‌های خاویاری استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) و



بستر (*Huso huso* × *Acipenser ruthenus*) پرورشی

مینا سیف زاده^۱، مهرداد نصری تاجن^{۲*} و رضا طاعتی^۳

^۱ ایران، انزلی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی پروری آب‌های داخلی، مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان

^۲ ایران، بندرانزلی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد بندرانزلی، گروه شیلات

^۳ ایران، تالش، دانشگاه آزاداسلامی، واحد تالش، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۰

چکیده

باکتری‌های لاکتوباسیلوس در روده ماهی‌ها به عنوان محافظت‌کننده بیولوژیک عمل کرده و می‌توانند منجر به بهبود سلامت گوشت ماهیان بعد از صید شوند از این رو افزایش تعداد آن‌ها در روده حائز اهمیت تلقی می‌گردد. مطالعه حاضر با اهداف ارزیابی تاثیر بايومین روی تعداد کلی باکتری‌ها و باکتری‌های لاکتوباسیلوس روده بستر و استرلیاد، میزان رشد و مقایسه آن‌ها با شاهد صورت پذیرفت. تیمارها شامل ماهی‌های تغذیه شده با سطوح صفر (شاهد)، ۱، ۱/۵ و ۲ گرم/کیلوگرم بايومین بودند. ۷۲ عدد ماهی از هر گونه با میانگین وزنی ۴۸ و ۸۶ گرم بر اساس ۵ درصد وزن به صورت دستی طی ۶۰ روز تغذیه شدند. در انتهای دوره پرورش طول (۴۴/۵۰ - ۳۰/۹۵ سانتی‌متر) و وزن (۳۷۴/۳۶ - ۱۱۲/۷۶ گرم) در استرلیاد و بستر در مقدار ۲ درصد در مقایسه با سایر تیمارها افزایش معنی‌دار نشان دادند. با افزایش مقدار بايومین جیره علیرغم کاهش تعداد کلی باکتری‌ها، باکتری‌های لاکتوباسیلوس افزایش یافت ($P > 0.05$). تعداد کلی باکتری‌ها بین استرلیاد (۴/۴۱ - ۴/۲۱ CFU) و بستر (۴/۴۹ - ۴/۳۲ CFU) در ۱ - ۲ درصد بايومین در مقایسه با شاهد (۴/۵۸ - ۴/۴۹ CFU) تفاوت معنی‌دار نشان ندادند ($P > 0.05$). در همین سطوح در استرلیاد (۱/۸۹ - ۱/۴۶ CFU) و بستر (۱/۹۴ - ۱/۴۹ CFU) نسبت به شاهد (۱/۴۵ - ۱/۳۹ CFU) تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس بیشتری مشاهده شد ($P > 0.05$). عوامل باکتریایی بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار نداشتند ($P > 0.05$). از آن‌جا که کاربرد بايومین در سطح ۲ درصد تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس روده را در ماهی‌ها نسبت به شاهد افزایش داد و منجر به افزایش رشد ماهی‌ها شد، از این‌رو کاربرد آن برای تغذیه آبزیان توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بايومین پی‌ای پی، باکتری‌های لاکتوباسیلوس، فلور باکتریایی روده. ماهی خاویاری بستر، ماهی استرلیاد.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱۴۴۵۶۰۰۳۲، پست الکترونیکی: m_seifzadeh_ld@yahoo.com

مقدمه

تاس ماهیان، آبزیان آب‌های نیمکره شمالی محسوب می‌شوند که از اوایل دوران ژوراسیک (قریب به ۲۰۰ میلیون سال پیش) تاکنون به بقای خود ادامه داده‌اند. اما طی سالیان اخیر در دریای خزر و سایر دریاها جهان صید آن‌ها با

کاهش مواجه شده و انگیزه‌ای قوی را برای پرورش آن‌ها جهت تولید گوشت، خاویار و فرآورده‌های جانبی فراهم کرده است (۱۷).

جامعه وجود دارد که خسارت ناشی از این امر اجتناب ناپذیر است (۱۸). علاوه بر این استفاده بی‌رویه از آنتی-بیوتیک‌ها خصوصا اریترومايسين، تتراسایکلین، سولفانامید و تری‌متو پریم که مصرف مشترک انسانی دارند، زمینه‌ساز به مخاطره افتادن امنیت غذایی و نا پایداری صادرات محصولات دریایی می‌شوند. بعلاوه مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان پرورشی احتمال باقی‌ماندن آن‌ها را در گوشت ماهیان به همراه دارد که بعد از قرارگیری در زنجیره غذایی و انتقال به انسان به عنوان مصرف‌کننده نهایی می‌تواند مشکلات متعددی را در بر داشته باشد. از سایر معایب مقاومت میکروبی می‌توان به اختلال در درمان بیماری‌ها و همچنین بروز زیان‌های اقتصادی برای پرورش دهندگان ماهی اشاره کرد. با در نظر گرفتن این که قوانین بهداشتی صنایع غذایی بقایای آنتی‌بیوتیکی را در مواد غذایی اکثر کشورها ممنوع کرده است، و همچنین خطرات ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها سبب شد که سیاست پرورش دهندگان تغییر یافته و بنابراین خیلی سریع توسعه روش‌های دیگری برای کنترل بیماری‌ها مورد توجه قرار گرفت. از جمله این روش‌ها کاربرد پروبیوتیک‌ها و پری-بیوتیک‌ها در تغذیه آبزیان هستند. اما عواملی مانند تردید در بقای پروبیوتیک‌ها در روده، توانایی تحمل شرایط حاکم در روده، فعال بودن سویه‌های پروبیوتیکی صرفا هنگام تغذیه، زنده ماندن سویه‌های پروبیوتیکی طی ساخت جیره‌های غذایی و ذخیره‌سازی از محدودیت‌های عمده استفاده از پروبیوتیک‌ها در آبزی‌پروری به شمار می‌روند. مجموع این عوامل سبب گردید که ایده جدیدی به نام پری‌بیوتیک شکل گیرد. پری‌بیوتیک‌ها به عنوان عناصر غذایی غیر قابل هضمی محسوب می‌شوند که از طریق تحریک رشد یا فعال-سازی تعداد محدودی از باکتری‌های روده از جمله لاکتوباسیلوس‌ها سبب بهبود فلور باکتریایی روده می‌شوند، و علاوه بر کاهش اثرات زیان‌بار عوامل عفونت‌زا و افزایش میزان بازماندگی در مواجهه با عوامل بیماری‌زا کیفیت و

پرورش گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری از اهمیت بالایی در زمینه‌های اقتصادی برخوردار می‌باشد. در دهه اخیر توجه بسیاری به صنعت پرورش تاس ماهیان در جهان شده و بستر مهمترین گونه‌ای است که در مراکز تکثیر و پرورش این ماهیان به خصوص در اروپا جهت استحصال گوشت و خاویار پرورشی مورد توجه قرار گرفت. این گونه که حاصل هیبریدگیری بین فیل ماهی ماده و استرلیاد نر می‌باشد گزینه مناسبی جهت معرفی برای پرورش دهندگان ماهیان خاویاری بوده و هم اکنون جهت کاهش فشار صید بر روی ذخایر طبیعی و بسیار با ارزش این ماهیان، پرورش آن در سایر کشورها رونق زیادی یافته است (۲۳).

استرلیاد تنها گونه خاویاری اروپای مرکزی است که زندگی خود را در آب‌های شیرین (رودخانه) می‌گذراند. این ماهی متعلق به گروه ماهی‌های غضروفی- استخوانی است، و از گونه‌هایی به حساب می‌آید که در رودخانه‌های منتهی به دریاچه‌های خزر، سیاه، آروف و بالتیک به سر می‌برد. گوشت ماهی استرلیاد از کیفیت بسیار بالایی برخوردار بوده، و یکی از با ارزشترین و خوشمزه‌ترین گوشت‌ها در بین ماهیان خاویاری می‌باشد که مصرف‌کنندگان زیادی را به خود اختصاص داده است. از این‌رو پرورش آن مورد توجه قرار گرفت (۳۰).

در حال حاضر معضل عمده آبی‌پروری تجاری، بهبود فرمول جیره غذایی برای ارتقاء سلامت ماهیان می‌باشد، از این رو به کارگیری آنتی‌بیوتیک‌ها در مقادیر مشخص در غذاهای آبزیان مجاز شناخته شده است. به طور سنتی آنتی‌بیوتیک‌ها برای جلوگیری و درمان بیماری‌های آبزیان کاربرد داشته. اما ممکن است که بعضی از گونه‌های باکتریایی نسبت به درمان آنتی‌بیوتیکی جواب نداده و در نتیجه علاوه بر ایجاد خطرهای زیست محیطی، امکان انتقال میکروب‌های مقاوم به دارو به انسان را نیز فراهم سازند. از این رو احتمال به خطر افتادن سلامت عمومی

کیلوگرم جیره افزوده شد. تعداد ۱۰۰ قطعه لارو از گونه استرلیاد با میانگین وزنی 0.75 ± 86 گرم و طول 0.99 ± 29 و گونه بستر با میانگین وزنی $1/89 \pm 48/33$ گرم و میانگین طول $1/18 \pm 24/5$ سانتی‌متر در طی ۸ هفته دوره پرورش ۳ نوبت در روز به صورت دستی تغذیه شدند. غذادهی به مقدار ۵ درصد میانگین وزن انجام شد. تیمارها شامل لاروهای استرلیاد و بستر تغذیه شده با ۱ درصد، $1/5$ درصد و ۲ درصد بایومین پی‌ای پی بودند. نمونه‌های بدون بایومین از گونه‌های استرلیاد و بستر به عنوان شاهد بودند. از این‌رو برای هر گونه تعداد ۴ تیمار و در کل ۸ تیمار در نظر گرفته شد (۱۳).

آزمایشات: برای بررسی اثرات غذا روی فلور باکتریایی روده از تعداد کلی باکتری‌ها و باکتری‌های لاکتوباسیلوس استفاده شد. آزمایشات بر روی لاشه ماهی‌ها در پایان دوره ۸ هفته‌ای انجام شد. برای انجام آزمایشات میکروبی جهت بررسی باکتریایی روده، بعد از گذشت ۴۸ - ۲۴ ساعت از زمان تغذیه از هر تیمار ۳ ماهی به طور تصادفی انتخاب گردید. ماهی‌ها به صورت زنده به آزمایشگاه منتقل شدند. ضد عفونی سطح شکمی ماهی با استفاده از الکل ۷۰ درصد انجام شد با ایجاد سوراخی در ناحیه شکمی روده خارج گشته و با آب مقطر استریل شستشو گردید. در مرحله بعد روده باز شده و مجدداً با آب مقطر استریل جهت حذف باقی مانده مواد مدفوعی مورد شستشو قرار گرفت. سپس ۲۵ گرم از روده همراه با موکوس و پرزها برای تعیین تعداد باکتری کشت داده شد (۳۵). برای رقت‌سازی، نمونه با ۹ برابر سرم فیزیولوژی مخلوط گردید و در هر مرحله از رقت‌های 10^{-5} - 10^{-1} ، ۱ میلی لیتر به روی محیط‌های کشت انتقال داده شد. برای تعیین تعداد کلی باکتری‌ها و باکتری‌های لاکتوباسیلوس به ترتیب روش کشت پور پلیت روی محیط کشت تریپتیکیز سوی آگار و روش کشت سطحی روی محیط کشت لاکتوباسیلوس روگوزا شارپ آگار به کار گرفته شد. پلیت‌های کشت لاکتوباسیلوس به مدت ۵ روز در گرم خانه ۳۰

سلامت گوشت آبزیان را نیز افزایش می‌دهند (۳۱، ۲۸). از این رو اثرات مفیدی بر میزبان گذاشته و سلامتی آن را بهبود می‌بخشند. انواع مختلفی از این نوع ترکیبات وجود دارند اما تعداد کمی از آنها مانند بایومین پی‌ای پی قابلیت استفاده در آبزی‌پروری را دارند. از این رو در سال‌های اخیر، علاقه فزاینده‌ای به استفاده از پری‌بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری مشاهده شده است (۱۵، ۱۱).

میکرو فلور طبیعی روده ماهی شامل مجموعه‌ای از گونه‌های باکتریایی است که پارامترهای رشد را از طریق بهبود هضم و جذب مواد مغذی افزایش می‌دهد. همچنین با در نظر گرفتن این که فلور باکتریایی روده می‌تواند بر حفظ کیفیت و ارتقاء سلامت گوشت ماهی نیز تاثیر داشته باشد، از این‌رو در صنعت فرآوری آبزیان نیز حائز اهمیت تلقی می‌گردد. با توجه به این‌که استفاده از پری‌بیوتیک‌ها در جهان نتایج امیدوار کننده داشته است و کاربرد آن توسط محققین متعددی روی افزایش تعداد باکتری‌های مفید روده و زمان ماندگاری فیله نشان داده شده است، در این راستا به کارگیری ترکیبات پری‌بیوتیک نظیر بایومین پی‌ای پی مورد توجه قرار گرفت، که می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشد (۱۵). از این‌رو مطالعه حاضر با هدف بررسی تعیین تعداد کل باکتری‌ها و باکتری‌های لاکتوباسیلوس روده ماهیان استرلیاد و بستر تغذیه شده با پری‌بیوتیک بایومین پی‌ای پی، میزان رشد و مقایسه آن‌ها با گروه شاهد انجام شد.

مواد و روشها

تیمارها: برای بررسی اثرات بایومین پی‌ای پی بر روی لارو ماهی‌های استرلیاد و بستر از غذای بیومار (EFICO Sigma 840 No 6.5) استفاده شد. این غذا حاوی ۴۳ درصد پروتئین حیوانی، ۱۸ درصد چربی خام، ۳۷ درصد فیبر خام، ۷۱ درصد خاکستر خام، فسفر $1/15$ درصد، کلسیم $1/40$ و سدیم $0/40$ درصد است. به منظور آماده‌سازی غذا، مقادیر $1/5$ ، 2 درصد بایومین پی‌ای پی، به ۱

تریپتیکاز سوی براث انتقال یافته و به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری گردید. سپس کدورت این محیط با محلول ۵/۰ مک فارلند مقایسه گشت و با سوآپ استریل روی محیط کشت مولر هیتون آگار به صورت چمنی کشت داده شد. بعد از گذشت مدت زمان ۲ ساعت در گرم‌خانه، دیسک‌های حاوی آنتی‌بیوتیک بر روی آن قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری گردید. از آنتی‌بیوتیک‌های سفالوتین (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۱۰ میکروگرم)، کلرامفنیکال (۳۰ میکروگرم) و اریترومایسین (۱۵ میکروگرم) برای تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به کار گرفته شدند (۲۴).

دمای آب با استفاده از دماسنج مدل ۲ - HTC، اکسیژن محلول با استفاده از اکسی‌متر (WTW) مدل set/oxi320، سختی آب به روش تیتراسیون به وسیله کیت TH (ایران) و pH با به کار گیری pH متر مدل set1/B- 3223wtw در طی دوره پرورش تعیین شدند (۳). ماهیان نمونه‌برداری شده برای انجام آزمایشات بیومتری شدند. برای اندازه‌گیری وزن از ترازو با دقت ۱ گرم و برای ماهیان زیر ۱۰۰ گرم از ترازوی با دقت ۰/۱ گرم استفاده شد. برای اندازه‌گیری طول از کولیس یا خط‌کش با دقت ۱ میلی‌متر و برای ماهیان زیر ۱۰۰ گرم از کولیس با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر استفاده شد (۵).

نتایج

فاکتورهای فیزیکی شیمیایی آب شامل دما، pH، اکسیژن و سختی آب در استخرهای پرورش ماهی‌های استرلیاد و بستر تقریباً برابر بوده و اختلاف معنی‌دار آماری بین آن‌ها وجود نداشت ($P > 0/05$). عوامل فیزیکی شیمیایی در استخرهای حاوی جیره با غلظت‌های مختلف ۱، ۱/۵ و ۲ درصد با یومین ماهی‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار نشان ندادند ($P > 0/05$). همچنین این عوامل بین

درجه سلسیوس و در جار بی‌هوای حاوی گاز پک و پلیت‌های کشت تعداد کلی باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند (۱۰، ۶، ۲، ۱). باکتری‌های رشد کرده روی محیط‌های لاکتوباسیلوس آگار از نظر فیزیولوژیک شامل رنگ کلنی، شکل باکتری و رنگ آمیزی گرم شناسایی اولیه شدند. سپس از نظر بیوشیمیایی (ویژگی‌های لاکتوباسیلوس برویس) شامل تخمیر قندهای آرابینوز، سلیبوز، فروکتوز، گالاکتوز، لاکتوز، مانوز، مالتوز، مانیتول، ملیزیتوز، ملیبوز، رافینوز، رامنوز، ساکارز، ترهالوز، گزیلوز، توانایی رشد در غلظت‌های ۲، ۴، ۳، ۵/۱ درصد نمک، توانایی رشد در دماهای ۱۵ و ۳۵ درجه سلسیوس، تولید گاز از گلوکز و توانایی رشد در pH ۵/۳ و ۵/۱، اکسیداز، اندول، متیل رد، VP و سیمون سترات بر اساس کتاب باکتری‌شناسی برگی مورد بررسی قرار گرفتند. برای تشخیص جنس به روش بیوشیمیایی باکتری‌ها از روی MRS آگار به محیط‌های تریپل شوگر آبیرون آگار، حرکت و سیمون سترات انتقال یافتند (۲۴، ۳۵). برای شناسایی مولکولی باکتری لاکتوباسیلوس برویس از آغازگرهای RWo1 و DG74 توسط Master Cycler PCR (Eppendorf، Gradient X 50، آلمان) استفاده شد (۳۶). از باکتری *L. brevis* CD0817 به عنوان شاهد استفاده شد. در این مطالعه برای بررسی خاصیت پروبیوتیکی باکتری‌های جدا شده از روده ماهی از آزمایشات هیدرولیز آرژنین، همولیز ۷ درصد خون گوسفند، صفرای ۳/۰ درصد، توانایی رشد در pH ۴ و ۵/۲ به مدت ۳ و ۴ ساعت، مقاومت به آنتی‌بیوتیک، کشت سلول به رده سلولی HT - ۲۹، توانایی رشد در حضور پپسین و تریپسین استفاده شد (۳۸). تهاجم به کشت سلولی به وسیله روش Rowan و همکاران (۲۰۰۱) و چسبندگی میکروبی با روش Nithya و Halami (۲۰۱۳) انجام شد (۳۲، ۳۴، ۳۹).

برای بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به تعداد ۱۰ - ۳ کلنی از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌های مورد بررسی به ۴ میلی لیتر

استخرهای حاوی تیمارهای آزمایشی و شاهد تفاوت معنی‌دار نشان ندادند ($P>0/05$). دما در این استخرها بین ۲۲/۸ - ۲۲/۶ درجه سلسیوس، pH بین ۸/۶ - ۸/۴ اکسیژن ۱۰ میلی گرم در لیتر و سختی آب بین ۲۰۷ - ۲۰۵ میلی‌گرم بر لیتر متغیر بودند. با توجه به این‌که آب‌های با سختی بالاتر یا مساوی ۱۸۰ میلی‌گرم بر لیتر در گروه آب-های سخت طبقه‌بندی می‌شوند، آب این استخرها در گروه آب‌های سخت قرار گرفتند (جدول ۱).

جدول ۱ - میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی استخرهای پرورش حاوی ماهی‌های استرلیاد و بستر تغذیه شده با بایومین پی‌ای پی و شاهد

شاخص	دما (درجه سلسیوس)	pH	اکسیژن (میلی گرم در لیتر)	سختی آب (میلی گرم بر لیتر)
آب استخر پرورش	۲۲/۸ ± ۱/۴ ^{aA}	۶/۸ ± ۱/۳ ^{aA}	۱۰ ± ۱/۱۹ ^{aA}	۳۰۷ ± ۱/۴۷ ^{aA}
استرلیاد (تیمار حاوی ۱ درصد بایومین)	۲۲/۸ ± ۱/۳ ^{aA}	۶/۸ ± ۱/۳ ^{aA}	۱۰ ± ۱/۵۸ ^{aA}	۳۰۷ ± ۱/۳۹ ^{aA}
استرلیاد (تیمار حاوی ۲ درصد بایومین)	۲۲/۸ ± ۱/۹ ^{aA}	۶/۸ ± ۱/۶ ^{aA}	۱۰ ± ۱/۴۶ ^{aA}	۳۰۷ ± ۱/۶۷ ^{aA}
استرلیاد (تیمار شاهد)	۲۲/۸ ± ۱/۱۸ ^{aA}	۶/۸ ± ۱/۳ ^{aA}	۱۰ ± ۱/۱۳ ^{aA}	۳۰۷ ± ۱/۹۹ ^{aA}
بستر (تیمار حاوی ۱ درصد بایومین)	۲۳/۱ ± ۶/۲۴ ^{aA}	۶/۹ ± ۱/۳۲ ^{aA}	۱ ± ۱۰/۲۸ ^{aA}	۳۰۵ ± ۱/۴۹ ^{aA}
بستر (تیمار حاوی ۱/۵ درصد بایومین)	۲۲/۸ ± ۱/۵۴ ^{aA}	۶/۸ ± ۱/۲۹ ^{aA}	۱۰ ± ۱/۷۸ ^{aA}	۳۰۷ ± ۱/۸۳ ^{aA}
بستر (تیمار حاوی ۲ درصد بایومین)	۲۲/۸ ± ۱/۳۷ ^{aA}	۶/۸ ± ۱/۳۱ ^{aA}	۱۰ ± ۱/۸۹ ^{aA}	۳۰۷ ± ۱/۷۷ ^{aA}
بستر (شاهد)	۲۳/۱ ± ۶/۲۴ ^{aA}	۷/۱ ± ۱/۳۲ ^{aA}	۱۰ ± ۱/۲۸ ^{aA}	۳۰۵ ± ۱/۴۹ ^{aA}

حروف یکسان در یک ردیف و ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است ($P>0/05$).

وزن اولیه و نهایی در تیمارهای آزمایشی بستر و استرلیاد تغذیه شده با غلظت‌های ۱، ۱/۵ و ۲ درصد تفاوت معنی‌دار داشتند ($P<0/05$). وزن نهایی در تیمارهای بستر و استرلیاد پرورشی حاوی غلظت‌های ۱/۵ و ۲ درصد بایومین پی‌ای پی در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نشان دادند ($P<0/05$)، اما در تیمارهای تغذیه شده با

غلظت ۱ درصد بایومین پی‌ای پی در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌دار ارائه نکردند ($P>0/05$). این عامل در تیمارهای تغذیه شده با غلظت ۲ درصد بایومین پی‌ای پی در مقایسه با سایر غلظت‌ها به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P<0/05$) (جدول ۲).

جدول ۲ - مقایسه میانگین وزن تیمارهای استرلیاد و بستر پرورشی تغذیه شده با بایومین پی‌ای پی در مقایسه با شاهد (گرم)

گونه ماهی	بستر	استرلیاد	شاخص	تیمار
وزن اولیه	وزن نهایی	وزن اولیه	وزن نهایی	
۴۷/۱ ± ۱۷/۰۸ ^{aA}	۶۸/۱ ± ۱/۱۷ ^{dA}	۱۰۹/۱۹ ± ۳/۰۹ ^{cA}	۱۲۲/۱ ± ۹۷/۷۰ ^{cA}	جیره حاوی ۱ درصد بایومین
۴۷/۷۵ ± ۱/۵۸ ^{aA}	۷۱/۳۴ ± ۲/۵۷ ^{bA}	۱۱۱/۸۰ ± ۲/۹۴ ^{bA}	۱۳۶/۱ ± ۸۰/۸۴ ^{bA}	جیره حاوی ۱/۵ درصد بایومین
۴۸/۲۷ ± ۲/۲۹ ^{aA}	۱۱۲/۷۶ ± ۱/۵۹ ^{aA}	۱۵۰/۵۶ ± ۲/۱۴ ^{aA}	۳۷۴/۳۶ ± ۱/۶۲ ^{aA}	جیره حاوی ۲ درصد بایومین
۴۸/۳۳ ± ۱/۸۹ ^{aA}	۶۹/۱۵ ± ۱/۸۳ ^{cA}	۱۰۸/۷۱ ± ۱/۸۲ ^{cA}	۱۲۱/۲ ± ۳۴/۶۱ ^{cA}	شاهد

حروف یکسان در یک ردیف و ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است ($P>0/05$).

بین مقادیر طول اولیه و نهایی در ماهی‌های بستر و استرلیاد پرورشی تغذیه شده با غلظت‌های ۱، ۱/۵ و ۲ درصد بایومین پی‌ای پی تفاوت معنی‌دار مشاهده می‌شود ($P<0/05$). طول نهایی در تیمارهای بستر و استرلیاد

پرورشی حاوی غلظت‌های ۱/۵ و ۲ درصد بایومین پی‌ای پی در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نشان دادند ($P<0/05$)، اما در تیمارهای تغذیه شده با غلظت ۱ درصد بایومین پی‌ای پی در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌دار ارائه

نکردند ($P > 0/05$). این عامل در تیمارهای تغذیه شده با غلظت‌ها به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0/05$) (جدول ۲). درصد بایومین پی‌ای پی در مقایسه با سایر

جدول ۳ - مقایسه میانگین طول تیمارهای استرلیاد و بستر پرورشی تغذیه شده با بایومین پی‌ای پی در مقایسه با شاهد (سانتی‌متر)

تیمار	شاخص	گونه ماهی		بستر		استرلیاد	
		طول اولیه	طول نهایی	طول اولیه	طول نهایی	طول اولیه	طول نهایی
جیره حاوی ۱ درصد بایومین		۲۴ ± ۱/۲۶ ^{aA}	۲۸ ± ۱/۲۶ ^{bA}	۳۴ ± ۱/۴۱ ^{cA}	۳۹ ± ۱/۶۹ ^{cA}		
جیره حاوی ۱/۵ درصد بایومین		۲۴/۵۱ ± ۱/۱۸ ^{aA}	۲۸/۵۰ ± ۱/۴۳ ^{bA}	۳۵/۵۰ ± ۱/۶۱ ^{bA}	۴۱/۱۵ ± ۱/۸۶ ^{bA}		
جیره حاوی ۲ درصد بایومین		۲۴/۵۲ ± ۱/۳۷ ^{aA}	۳۰/۹۵ ± ۱/۲۶ ^{aA}	۴۰/۵۰ ± ۱/۴۶ ^{aA}	۴۴/۱۵ ± ۱/۹۴ ^{aA}		
شاهد		۲۳ ± ۱/۰۹ ^{aA}	۲۷ ± ۱/۳۴ ^{bA}	۳۳/۵۰ ± ۱/۱۵ ^{cA}	۳۷/۱۵ ± ۱/۳۸ ^{cA}		

حروف یکسان در یک ردیف و ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است ($P > 0/05$).

عوامل باکتریایی در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد کاهش معنی‌دار آماری نداشتند ($P > 0/05$). باکتری‌های لاکتوباسیلوس در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌دار آماری ارائه نکردند ($P > 0/05$). بیشترین تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس در تیمار ۲ درصد ماهی‌های استرلیاد و بستر مشاهده شد ($P > 0/05$). کم‌ترین تعداد کلی باکتری‌ها در تیمار ۲ درصد ماهی‌های استرلیاد و بستر گزارش شد ($P > 0/05$) (جدول ۴).

روی محیط کشت لاکتوباسیلوس آگار کلنی‌های رشد کرده دارای ویژگی‌های کلنی یکسان بودند و تعداد ۱ ایزوله باکتری با ویژگی‌های لاکتوباسیلوس جدا شد.

نتایج به دست آمده با توجه به شرایط انجام آزمایش است. تعداد کل باکتری‌ها و باکتری‌های لاکتوباسیلوس در تیمارهای حاوی ۱، ۱/۵ و ۲ درصد بایومین پی‌ای پی ماهی‌های بستر و استرلیاد تفاوت معنی‌دار نشان نداد ($P > 0/05$). همچنین تعداد این عوامل بین ماهی‌های استرلیاد و بستر تفاوت معنی‌دار نشان ندادند ($P > 0/05$).

جدول ۴ - بررسی تعداد کلی باکتری‌ها و باکتری‌های لاکتوباسیلوس در امعاء و احشاء ماهی‌های استرلیاد و بستر پرورشی تغذیه شده با بایومین پی‌ای پی در مقایسه با شاهد (لگاریتم بر مبنای ۱۰ واحد تشکیل دهنده کلنی)

تیمار	جیره حاوی ۱ درصد بایومین	جیره حاوی ۱/۵ درصد بایومین	جیره حاوی ۲ درصد بایومین	تعداد کلی باکتری‌ها			باکتری‌های لاکتوباسیلوس		
				شاهد	جیره حاوی ۱ درصد بایومین	جیره حاوی ۱/۵ درصد بایومین	جیره حاوی ۲ درصد بایومین	شاهد	جیره حاوی ۱ درصد بایومین
استرلیاد	۴/۴۱ ± ۱/۳۰ ^{aA}	۴/۳۴ ± ۱/۱۳ ^{aA}	۴/۲۱ ± ۱/۱۵ ^{aA}	۴/۴۹ ± ۱/۳۵ ^{aA}	۱/۳۱ ± ۱/۳۱ ^{aA}	۱/۶۴ ± ۱/۲۳ ^{aA}	۱/۱۵ ± ۱/۸۹ ^{aA}	۱/۲۵ ± ۱/۳۹ ^{aA}	
بستر	۴/۴۹ ± ۱/۳۸ ^{aA}	۴/۴۳ ± ۱/۲۱ ^{aA}	۴/۳۲ ± ۱/۱۷ ^{aA}	۴/۱ ± ۵۸/۲۸ ^{aA}	۱/۱ ± ۴۹/۲۷ ^{aA}	۱/۱۸ ± ۱/۱۸	۱/۹۴ ± ۱/۲۲	۱/۱ ± ۴۵/۱۳ ^{aA}	

حروف یکسان در یک ردیف و ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است ($P > 0/05$).

شکل باریک، گرم مثبت، میله‌ای شکل کوتاه با انتهای گرد، انفرادی یا زنجیره‌ای کوتاه و بدون اسپور بود.

Lactobacillus brevis آرابینوز، لاکتوز، مالتوز، تولید آمونیاک از آرژنین، ملی بیوز، رافینوز، گاز از گلوکز، ساکارز

بررسی ویژگی‌های کشت باکتری لاکتوباسیلوس برویس جدا شده: کلنی‌های این باکتری به شکل گرد، منفرد، صاف، محدب، براق مایل به سفید یا قهوه‌ای روی محیط MRS آگار بود. در مشاهده میکروسکوپی باکتری به

و زایلوز مثبت بود. همچنین در pH ۵/۴ و ۵/۶ قادر به رشد بود. قادر به رشد در ۲، ۳ و ۴ درصد نمک بود. در دمای ۱۵ درجه سلسیوس توانایی رشد داشت. اما این باکتری قادر به تخمیر قندهای سلوبیوز، فروکتوز، گالاکتوز، مانیتول، مانوز، ملیزیتوز، رامنوز و ترهالوز نبود. در نمک جدول ۵- ویژگی‌های بیوشیمیایی باکتری‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از روده ماهی‌های بستر و استرلیاد پرورشی تغذیه شده با بایومین پی‌ای پی در مقایسه با شاهد (بر اساس باکتری‌شناسی برگه)

ویژگی	تیمار	<i>Lactobacillus brevis</i> جدا شده	شاهد (<i>L. brevis</i> CD0817)
pH ۵/۴ و ۵/۶	+	+	+
کاتالاز، اکسیداز، اندول، متیل رد، VP و سیمون سیترات	-	-	-
رشد در ۲، ۳ و ۴ درصد نمک	+	+	+
تخمیر قندهای آرابینوز، لاکتوز، مالتوز، تولید آمونیاک از آرژنین، ملی‌بیوز، رافینوز، گاز از گلوکز، ساکارز و زایلوز	+	+	+
سلوبیوز، فروکتوز، گالاکتوز، مانیتول، مانوز، مالتوز، ملیزیتوز، ملی بیوز، ریبوز، رامنوز و ترهالوز	-	-	-
دمای ۱۵ درجه سلسیوس	+	+	+
دمای ۴۵ درجه سلسیوس	-	-	-
حرکت	-	-	-
تریپل شوگر آبرون آگار	اسید/اسید	اسید/اسید	اسید/اسید
نمک ۵/۶ درصد	-	-	-

Lactobacillus brevis قادر به رشد در حضور نمک‌های صفراوی، شیره معده (پپسین و تریپسین) و اسیدیته پائین بود. و در هیچ مورد تعداد باکتری‌ها از 1×10^6 CFU کمتر نبود. بین لاکتوباسیلوس برویس جدا شده و شاهد در

جدول ۶- بررسی توانایی رشد در حضور شیره معده، نمک صفراوی و تحمل pH باکتری *Lactobacillus brevis* جدا شده از روده ماهی‌های استرلیاد و بستر پرورشی در مقایسه با شاهد

شاخص	pH				شیره معده		باکتری
	۵/۲		۴		پپسین	تریپسین	
صفرا	۴ ساعت	۳ ساعت	۴ ساعت	۳ ساعت	۴ ساعت	۳ ساعت	
<i>L. brevis</i> جدا شده	$\pm 2/45$ aA	$\pm 2/38$ aA	$\pm 1/99$ aA	$\pm 3/67$ aA	$\pm 1/34$ aA	$\pm 3/78$ aA	$\pm 2/85$ aA
	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8
<i>L. brevis</i> CD0817	$\pm 2/48$ aA	$\pm 2/43$ aA	$\pm 1/95$ A	$\pm 3/69$ aA	$\pm 1/41$ aA	$\pm 3/85$ aA	$\pm 2/89$ aA
	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8

حروف کوچک متفاوت در یک ردیف و حروف بزرگ متفاوت در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری لاکتوباسیلوس برویس جدا شده از روده مشاهده نشد و باکتری نسبت به نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین، تتراسایکلین، آزیترومایسین، سیپروفلوکساسین و کلرآمفنیکال حساس بود. مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه بین باکتری‌های لاکتوباسیلوس برویس جدا شده و نمونه شاهد یکسان بود (جدول ۷).

جدول ۷- نتایج قطر هاله عدم رشد دیسک‌های آنتی‌بیوتیک روی باکتری *Lactobacillus brevis* (میلی‌متر) جدا شده از روده ماهی‌های استرلیاد و بستر پرورشی تغذیه شده با بایومین پی‌ای پی در مقایسه با شاهد

دیسک	آمپی‌سیلین	پنی‌سیلین	تتراسایکلین	اریترومایسین	سیپروفلوکساسین	کلرآمفنیکال
<i>L. brevis</i> جدا شده	۱۳/۲ ± ۶/۱۱A	۲۹/۶ ± ۱/۱۸A	۱۸ ± ۱/۱۶A	۳۰/۴ ± ۲/۲۳A	۱۶/۴ ± ۱/۱۲A	۲۱/۳ ± ۲/۱۷A
<i>L. brevis</i> CD0817	۱۳/۹ ± ۲/۱۶A	۲۹/۱ ± ۱/۱۳A	۱۸ ± ۱/۳۴A	۲۰/۷ ± ۱/۱۹A	۱۶/۵ ± ۱/۱۷A	۲۱/۹ ± ۱/۵۶A

حروف بزرگ متفاوت در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

فاکتورهای تهاجم به رده سلولی و چسبندگی در باکتری *L. brevis* در مقایسه با کنترل پروبیوتیک مثبت کاهش معنی‌دار نشان ندادند ($P > 0.05$). اما این فاکتورها در مقایسه با کنترل بیماری‌زای مثبت کاهش معنی‌دار نشان دادند.

جدول ۸- نتایج کشت سلولی باکتری *Lactobacillus brevis* جدا شده از روده ماهی‌های استرلیاد و بستر پرورشی تغذیه شده با بایومین پی‌ای پی در مقایسه با شاهد

تیمار	<i>Lactobacillus brevis</i> جدا شده		<i>L. brevis</i> CD0817	
شاخص	تهاجم (درصد)	چسبندگی (درصد)	تهاجم (درصد)	چسبندگی (درصد)
بافر نمک فسفات (کنترل منفی)	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i>	۰/۰۲ ± ۰/۱۰bA	۰/۵۸ ± ۰/۰۷bA	۰/۰۴ ± ۰/۱۰bA	۰/۵۵ ± ۰/۰۷bA
<i>Bacillus coagulans</i> (IBRC-M 10807) (کنترل پروبیوتیک مثبت)	۰/۰۸ ± ۰/۰۴ bA	۱/۲ ± ۰/۰۸bA	۰/۰۵ ± ۰/۰۴ bA	۱/۴ ± ۰/۰۸bA
<i>L. monocytogenes</i> (IBRC-M 10671) (کنترل بیماری‌زای مثبت)	۳۵/۳ ± ۵۲/۱ aA	۲/۴ ± ۰/۱۳aA	۳۵/۸ ± ۵۲/۱ aA	۲/۹ ± ۰/۱۳aA

حروف کوچک متفاوت در یک ردیف و حروف بزرگ متفاوت در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

باکتری لاکتوباسیلوس برویس جدا شده فعالیت همولیز داشت و قادر به هیدرولیز آرژنین نبود. با در نظر گرفتن این عوامل و بر اساس جداول ۶، ۷ و ۸ باکتری *Lactobacillus brevis* پروبیوتیک بود.

بحث و نتیجه‌گیری

از مهمترین فاکتورهای فیزیوشیمیایی موثر برای رشد آبزیان پرورشی می‌توان به دما، اکسیژن و pH اشاره کرد. بر اساس جدول ۱ این عوامل طی دوره پرورش در حد

آنالیز مولکولی: نتایج به‌دست‌آمده از طریق واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز برای تعیین همولوژی بین توالی‌های رفرانس منتشر شده توسط مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI) بررسی شدند. با توجه به این‌که همولوژی بیشتر

ماهیان به طور طبیعی در محیط حاوی باکتری زیست می‌کنند، بنابراین سطوح خارجی آن‌ها تماس فراوانی با میکروارگانیسم‌های باکتریایی دارد، و تعداد باکتری‌های هوازی و هتروتروف در سطح بدن و آبشش‌های ماهی در تعامل با جمعیت باکتریایی آب محیط اطراف است. از آن‌جایی که جمعیت باکتریایی لوله گوارش از غذای مصرف شده توسط ماهی نیز تاثیر پذیر است، و دستگاه گوارش ماهی یکی از مهم‌ترین بخش‌هایی است که با محیط آبی در ارتباط بوده و بنابراین ممکن است که در معرض عوامل بیماری‌زای بالقوه قرار گیرد، از این رو ارزیابی وجود باکتری‌های مفید مانند باکتری‌های اسید لاکتیک در دستگاه گوارش بچه ماهی بسیار مهم است، زیرا باکتری‌های بومی در مراحل اولیه رشد لارو ماهی به سرعت در دستگاه گوارش آن کلونیزه می‌شوند (۳۱، ۲۰).

بر اساس جداول ۴ و ۵ استفاده از سطوح مختلف پری-بیوتیک در جیره بچه ماهی‌های استرلیاد و بستر در مدت زمان استفاده شده سبب تغییر توازن باکتریایی میکروفلور روده به سمت باکتری‌های بالقوه مفید روده (لاکتوباسیلوس‌ها) شده است. همچنین جداول ۸ - ۶ نشان می‌دهد که لاکتوباسیلوس‌های به دست آمده پروبیوتیک بودند. یکی از دلایل افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها بعد از استفاده از پری-بیوتیک، تأمین مواد غذایی مورد نیاز این باکتری‌ها می‌باشد. لاکتوباسیلوس‌ها قادر نیستند آنزیم‌های تجزیه‌کننده خارج سلولی را تولید کنند. بنابراین آن‌ها برای رشد به جانداران دیگری وابسته می‌باشند، که برای فراهم ساختن مواد غذایی و تاثیر بر مولکول‌های پیچیده از آن‌ها استفاده کنند. از آن‌جا که بایومین پی‌ای پی سبب تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی می‌شود، می‌تواند آنزیم‌های مورد نیاز رشد باکتری‌های لاکتوباسیلوس را فراهم ساخته و امکان افزایش این باکتری‌ها را میسر سازد (۲۵، ۱۴). از سایر مکانیسم‌ها می‌توان به تشدید تولید متابولیت‌های مختلف که خود باعث تقویت میکروفلور روده و کمک به جذب بهتر مواد غذایی نظیر ویتامین‌ها می‌شوند، اشاره کرد.

طبیعی بودند، با توجه به این که انتقال غذا از طریق آب به آبزیان صورت می‌گیرد و از آن‌جا که این عوامل در استخرهای حاوی تیمارهای آزمایشی در مقایسه با استخر حاوی تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نشان ندادند، می‌توان پی برد که پری‌بیوتیک‌ها بر روی ویژگی‌های فیزیوشیمیایی استخرهای پرورش تاثیر نداشتند. که در واقع از مزایای آن‌ها به حساب می‌آید (۱۳).

بر اساس جداول ۲ و ۳ لاروهای تغذیه شده با پری‌بیوتیک طی ۱۱ هفته رشد قابل توجهی را نشان دادند. وجود پری-بیوتیک‌ها در جیره باعث افزایش جذب گلوکز می‌گردد و نیز قابلیت جذب عناصر ضروری و اسیدهای چرب فرار را بالا می‌برد. علاوه بر این بایومین پی‌ای پی حاوی اسانس مرکبات مانند لیمونن به منزله طعم دهنده خوراک و بادیان شامل آنتول می‌باشد، که به عنوان محرک اشتها شناخته شده است. این عوامل دلیل دیگری برای افزایش رشد به شمار می‌روند. همچنین ثابت شده که باکتری‌های مفید دستگاه گوارش با تولید آنزیم‌ها و مواد متابولیکی باعث تسهیل هضم و جذب غذا و افزایش ارزش غذایی آن و کاهش مصرف انرژی می‌گردند (۱۴). به طور کل ترکیبات پری‌بیوتیکی به صورت غیرمستقیم از طریق اصلاح فلور میکروبی دستگاه گوارش و به صورت مستقیم با افزایش حجم روده و کاهش pH منجر به افزایش هضم و جذب غذا می‌گردند. این امر می‌تواند باعث افزایش جذب ویتامین‌ها و مواد معدنی به خصوص کلسیم و فسفر شود که سبب تناسب رشد وزنی و طولی ماهی‌ها شده است. همچنین مهمترین محصول نهایی متابولیسم پری‌بیوتیک‌ها اسیدهای چرب زنجیره کوتاه هستند. مطالعات انجام شده در این زمینه به اثبات رساندند که اسیدهای چرب زنجیره کوتاه از طریق اپی‌تلیم روده جذب می‌شوند. بنابراین جذب اسیدهای چرب، ویتامین‌ها و مواد معدنی علاوه بر افزایش رشد آبزیان سبب بهبود ویژگی‌های غذایی آن‌ها نیز می‌گردند (۲۷، ۲۶).

کنند و در صورت وجود باکتری‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش امکان آلودگی گوشت آبزیان دور از انتظار نیست. ترکیبات تشکیل دهنده بایومین پی‌ای پی از جمله اسانس‌های پونه و بادیان از عوامل دیگری به شمار می‌روند که در اعمال خواص ضد میکروبی آن موثر هستند. اسانس پونه حاوی ماده کارواکرول و دارای ویژگی‌های ضد میکروبی قوی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. اسانس بادیان نیز شامل آنتول و دارای اثرات ضد ویروسی و ضد قارچی است. علاوه بر این بایومین پی‌ای پی به منزله مکمل غذایی علاوه بر محرک رشد و تغییر فلور باکتریایی روده حاوی ترکیبات متعددی می‌باشد که ممکن است بعد از صید ماهی نقش حفاظتی مانند آنتی‌اکسیدانی بر روی لاشه داشته باشد (۳۳، ۲۲، ۱۲).

صفا بخش و همکاران (۱۳۹۲) در مطالعه‌ای تحت عنوان تاثیر پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces cerevisiae* بر میکروفلور طبیعی دستگاه گوارش فیل ماهیان انگشت قد پرورشی (*Huso huso*) به این نتیجه رسیدند که سطح ۱/۵ درصد پری‌بیوتیک دیواره سلولی مخمر می‌تواند باعث بهبود میکرو فلور روده فیل ماهیان انگشت قد پرورشی شود (۸). Akrami و همکاران (۲۰۱۵) تاثیر غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ درصد از بایومین ایمبو را روی تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس در لارو فیل ماهی بررسی کردند و یافتند که با افزایش غلظت از ۱ به ۲ درصد باکتری‌های لاکتوباسیلوس روده بخش اعظم باکتری‌ها را به خود اختصاص دادند (۱۳). ابری و همکاران (۱۳۹۱) اثرات غلظت‌های ۰، ۱ و ۲ درصد پری‌بیوتیک فروکتو اولیگوساکارید جیره را بر تراکم لاکتوباسیلوس روده بچه ماهی ازون برون بررسی کردند و گزارش کردند که تعداد کلنی باکتری‌های لاکتوباسیلوس در سطح ۱ درصد افزایش معناداری در مقایسه با شاهد داشت. این پژوهشگران بیان کردند که تعداد کل باکتری‌های روده در سطح ۱ درصد از ۴/۸۹ به ۷/۷۱ و در سطح ۲ درصد از ۴/۸۹ به ۶/۷۶ لگاریتم (بر مبنای ۱۰) واحد تشکیل

عوامل تنش‌زا نظیر شرایط محیطی و محل نگهداری ممکن است که منجر به کاهش اشتها، هضم غیر مطلوب و تجزیه نامناسب مواد مغذی شوند، که در نتیجه عدم تعادل میکروفلور روده را به همراه دارند. با توجه به عملکرد این پری‌بیوتیک در فلور دائم دستگاه گوارش تعادل ایجاد شده و با در نظر گرفتن این‌که وجود تعادل در میکروفلور روده عامل کلیدی برای محافظت حیوانات علیه بیماری‌های روده‌ای و تامین سلامت و عملکرد آن‌ها محسوب می‌شود، از این رو امکان غلبه بر این مشکل را فراهم می‌سازد (۲۹). مطالعه پژوهشگران نشان داد که بایومین پی‌ای پی تعداد میکروب‌ها (هوازی و غیر هوازی) را در دستگاه گوارش کاهش می‌دهد، اما باکتری‌های لاکتوباسیلوس در گروه باکتری‌های میکروآئروفیل قرار گرفته و تاثیر منفی ناشی از به کارگیری این ترکیب بر روی آن گزارش نشده است. همچنین باکتری‌های بومی روده قادر هستند که پری-بیوتیک‌ها را تخمیر کنند. تخمیر این سوبستراها سبب افزایش انرژی و رشد باکتری‌ها می‌شود که اثرات مفیدی از طریق ممانعت از تشکیل کلنی باکتری‌های بیماری‌زا ایجاد می‌کند، از طرفی پری‌بیوتیک‌ها به صورت مستقیم نیز با اتصال به عوامل بیماری‌زا می‌توانند آن‌ها را از بدن جاندار خارج کنند. این امر می‌تواند به دلیل نقش ترکیبات پری-بیوتیکی در اصلاح فلور میکروبی روده باشد (۱۳). علاوه بر موارد ذکر شده آبزیان از گروه جانداران خونسرد بوده و تبعیت دمای بدن از دمای آب سبب ایجاد تغییر دائمی در فلور میکروبی روده می‌گردد. نوع غذایی، وجود مکان‌های تشکیل کلنی، استراتژی‌های تخمیر توسط باکتری‌ها، زمان عبور از روده، pH روده، تولید متابولیت‌های باکتریایی، وجود مواد ضد باکتریایی، سن میزبان، عوامل بیماری‌زا و غیره از عوامل موثر بر فلور باکتریایی روده به شمار می‌روند (۳۱، ۲۱، ۱۹).

تغییر فلور میکروبی روده بعد از صید نیز می‌تواند در افزایش سلامت و ماندگاری فیله ماهی موثر واقع شود. زیرا بعد از صید باکتری‌های بومی روده به بافت نفوذ می-

آزمایشی تغذیه شدند. این محققین دریافتند که اینولین جیره در نسبت ۵ گرم بر کیلوگرم و کنگر در هر دو سطح ۵ و ۱۰ سبب افزایش تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک شد (۱۶). در مطالعه حاضر تعداد کلی باکتری‌ها از $4/41$ CFU در سطح $0/5$ درصد به $4/31$ CFU در سطح ۲ درصد در ماهی استرلیاد کاهش یافت، که در مقایسه با شاهد ($4/49$) کاهش معنی‌دار نداشت. در ماهی بستر نیز تعداد کلی باکتری‌ها از $4/49$ CFU در سطح $0/5$ درصد به $4/32$ CFU در سطح ۲ درصد رسید، که در مقایسه با شاهد ($4/58$) کاهش معنی‌دار نداشت. تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس از $1/46$ CFU در سطح $0/5$ درصد به $1/89$ CFU در سطح ۲ درصد در ماهی استرلیاد افزایش یافت، که در مقایسه با شاهد ($1/39$) افزایش معنی‌دار نداشت. در ماهی بستر نیز تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس از $1/49$ CFU در سطح $0/5$ درصد به $1/94$ CFU در سطح ۲ درصد رسید، که در مقایسه با شاهد ($1/45$) افزایش معنی‌دار نداشت. تفاوت در نتایج مشاهده شده با سایر مطالعات انجام شده به دلیل تفاوت در نوع پری‌بیوتیک به کار رفته برای تغذیه ماهیان، غلظت پری‌بیوتیک، شرایط پرورش، گونه ماهیان و زمان پرورش است.

نتیجه‌گیری کلی

از آنجا که تیمار فیله ماهی با باکتری‌های لاکتوباسیلوس پروبیوتیک به عنوان یکی از روش‌های جدید نگهداری فیله به شمار می‌رود از این رو از طریق ایجاد تغییر در برنامه غذایی آبزیان هنگام پرورش می‌توان به این مورد دست یافت. افزودن مکمل غذایی با یومین پی‌ای پی به جیره غذایی سبب شد که ماهیان تغذیه کرده علاوه بر این‌که رشد بهتری را از خود نشان می‌دهند، تغییراتی نیز در دستگاه گوارش آنها اتفاق می‌افتد. وجود باکتری‌های لاکتوباسیلوس در روده ماهی‌ها علاوه بر این‌که در سلامت ماهیان حائز اهمیت می‌باشند همچنین قادر هستند که به

دهنده کلنی رسید. همچنین تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس در سطح ۱ درصد از $2/89$ به $6/22$ و در سطح ۲ درصد از $2/89$ به $4/31$ لگاریتم (بر مبنای ۱۰) واحد تشکیل دهنده کلنی رسید. اما در تیمار شاهد تعداد کل باکتری‌ها از $4/89$ به $5/51$ و تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس از $2/89$ به $3/31$ لگاریتم (بر مبنای ۱۰) واحد تشکیل دهنده کلنی رسید. این محققین بیان کردند که سطح ۱ درصد فروکتوالیگوساکارید در جیره می‌تواند آثار مثبتی بر تراکم باکتری‌های لاکتوباسیلوس روده داشته باشد (۴). ضیایی نژاد و همکاران (۱۳۹۳) تاثیر پری‌بیوتیک بایونیک یست سل وال را روی تعداد کلی باکتری‌ها و باکتری‌های لاکتوباسیلوس روده ماهیان انگشت قد قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی کردند. این محققین تعداد کلی باکتری‌ها را در تیمار کنترل ۱۱//۸ و در تیمارهای تغذیه شده با سطوح ۱، ۲ و ۳ درصد پری‌بیوتیک به ترتیب ۱۲، ۱۲/۴ و ۱۲/۳ و تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس را در تیمارهای کنترل و تغذیه شده با سطوح ۱، ۲ و ۳ درصد پری‌بیوتیک به ترتیب ۵/۲، ۴/۰۶، ۴/۶۸ و ۴/۶۰ لگاریتم (بر مبنای ۱۰) واحد تشکیل دهنده کلنی بیان کردند (۹). محبوبی صوفیانی و همکاران (۱۳۹۶) اثرات پری‌بیوتیک فرمکتو جیره ماهی را روی میکروفلور روده قزل‌آلای رنگین کمان بررسی کردند. تعداد ۱۸ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزنی $19/06$ گرم با ۹ جیره آزمایشی شامل ۳ سطح فرمکتو (صفر، ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم) به مدت ۱۰ هفته تغذیه شدند. از این تحقیق نتیجه گرفتند که فرمکتو سبب تغییر در جمعیت کل باکتری‌های روده شد (۷). Boonanuntasarn و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی اثرات اینولین غذایی و کنگر فرنگی اورشلیم بر میکروبیوتای روده ماهی تیلپای نیل پرداختند. برنامه غذایی برای اینولین در نسبت‌های ۰، ۲/۵ و ۵ گرم بر کیلوگرم و برای کنگر در غلظت‌های ۰، ۵ و ۱۰ گرم بر کیلوگرم طراحی شدند. لاروهای تیلپای نیل به مدت ۸۴ روز با جیره‌های

شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد، ولی منجر به افزایش تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس در ماهی‌های تغذیه شده در مقایسه با شاهد شد، از این رو با در نظر گرفتن اثرات باکتری‌های لاکتوباسیلوس روی کیفیت و ماندگاری گوشت آبزیان و توجه به افزایش رشد ماهی‌های مورد مطالعه کاربرد بایومین پی‌ای پی در غلظت ۲ درصد برای تغذیه آبزیان توصیه می‌شود.

عنوان محافظت‌کننده بیولوژیک عمل کرده و منجر به بهبود سلامت گوشت ماهیان بعد از صید شوند از این‌رو افزایش تعداد این باکتری‌ها در روده ماهی بسیار با اهمیت تلقی می‌گردد. از آن‌جا که تغذیه ماهی‌های استرلیاد و بستر پرورشی با بایومین پی‌ای پی در غلظت‌های ۱/۵ و ۲ درصد سبب افزایش معنی‌دار در طول و وزن آن‌ها شد، اما در تعداد کلی باکتری‌ها و باکتری‌های لاکتوباسیلوس در غلظت ۲ درصد در مقایسه با غلظت ۱/۵ درصد و همچنین

منابع

- ۱- استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۱۶۴، ۱۳۹۷. خوراک دام - جداسازی و شمارش گونه‌های لاکتوباسیلوس. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
- ۲- استاندارد شماره ۱ - ۸۹۲۳، ۱۳۸۶. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- آماده‌سازی آزمایش سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون‌های میکروبیولوژی قسمت اول: مقررات کلی برای آماده‌سازی سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران،
- ۳- استاندارد ملی ایران شماره ۴۱۲۴، ۱۳۷۶. اندازه‌گیری pH قسمت اول- ویژگی‌های مقیاس pH. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- ۴- ایری، ی، خوشبایر رستمی، ح و اکرمی، ر. ۱۳۹۱. اثر پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکارید جیره بر رشد و تراکم لاکتوباسیلوس روده در بچه‌ماهی ازون برون. علوم و فنون شیلات. ۱ (۱): ۱۱-۱۱
- URL: <http://jfst.modares.ac.ir/article-6-6058-fa.html>
- ۵- بیس واس، اس. پی. ۱۹۹۳. روش‌های دستی در بیولوژی ماهی (ترجمه: ولی پور، ع و عبدالملکی، ش ۱۳۷۹). انتشارات مرکز تحقیقات شیلات استان گیلان. ۱۳۸ صفحه.
- ۶- سیف زاده، م، ربانی خوراسگانی، م و خانی پور، ع. ا. ۱۴۰۰. شناسایی باکتری‌های پروبیوتیک عصاره آبی خرماهای مضافتی، پیارم و زاهدی پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۳۳ (۱): ۱۱۳ - ۱۰۶
- DOR: [20.1001.1.23832738.1397.31.1.11.7](https://doi.org/20.1001.1.23832738.1397.31.1.11.7)
- 11- Abiri, Y., Khoshbavar Rostami, H and Akrami, R. 2013. Effect of dietary Fructooligosaccharide as a prebiotic on the growth and density of Lactobacillus in intestine of stllate (Acipenser stellatus) fingerling. JFST. 1:1-11.
- 12- Akbary, P., Bitra, S and Sarhadipour, M. 2017. Effect of Synbiotic Biomin Imbo on anti-oxidant status and lipid profiles of Mugil cephalus. Vet Res Biol Prod. 30: 224 – 233.
- 13- Akrami, R., Nasri – Tajan, M., Jahedi, A., Jahedi, M., Razaeghi Mansour, M and Jafarpour, S. A. 2015. Effect of dilatory symbiotic on growth, survival, lactobacillus bacterial count,

- blood incides and immunity of beluga juvenile. *Aquacult Nut.* 2015: 1 – 8.
- 14- Allameh, S., Ringø, E., Yusoff, F., Daud, H and Ideris, A. 2015. Dietary supplement of *Enterococcus faecalis* on digestive enzyme activities, short-chain fatty acid production, immune system response and disease resistance of Javanese carp (*Puntius gonionotus*, Bleeker 1850). *Aquacult Nutr.* 23: 331–338.
 - 15- Bahramian, S and Parsa, A. 2017. A survey of growth performance, intestinal micro-flora and meat shelf-life in rainbow trout fed with *Pistacia atlantica* kurδικa essential oil. *Iran J Fish Sci.* 16: 619–624.
 - 16- Boonanuntanasarn, S., Tiengtam, N., Pitaksong, T., Piromyou, P and Teaumroong, N. 2017. Effects of dietary inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) on intestinal microbiota community and morphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquacult. Nutr.* 24: 712–722.
 - 17- Chandra, G, and Fopp-Baya, D. 2021. Trends in aquaculture and conservation of sturgeons: a review of molecular and cytogenetic tools. *Rev Aquacult.* 13: 119 – 137.
 - 18- Dawood, M. A. O and Koshio, S. 2016. Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: a review. *Aquacult.* 454: 243–251.
 - 19- Dehler, C. E., Secombes, C. J., and Martin, S. A. M. 2017a. Environmental and physiological factors shape the gut microbiota of Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.). *Aquacult.* 467: 149–157.
 - 20- Dehler, C. E., Secombes, C. J and Martin, S. A. M. 2017b. Seawater transfer alters the intestinal microbiota profiles of Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.). *Sci Rep.* 7:13877.
 - 21- Del'Duca, A., Cesar, D. E and Albreu, P. C. 2015. Bacterial community of pond's water, sediment and in the guts of tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles characterized by fluorescent *in situ* hybridization technique. *Aquacult Res.* 46: 707–715.
 - 22- Desai, A. R., Links, M. G., Collins, S. A., Mansfield, G. S., Drew, M. D and Van Kessel, A. G. 2012. Effects of plant based diets on the distal gut microbiome of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult.* 350–353: 134–142.
 - 23- Ebrahimi, V., Salati, A. P., Mohammadi Azarm, H and Hasanpour, S. 2017. Effects of dietary green tea (*Camellia sinensis* L) on acute stress responses in sturgeon hybrid (*Huso huso* ♂ × *Acipenser ruthenus* ♀). *Aquacult Res.* 48: 618 – 623.
 - 24- EL-Sayed, A. I. M., El-Borai, A. M., Akl, S. H. 2022. Identification of *Lactobacillus* strains from human mother milk and cottage cheese revealed potential probiotic properties with enzymatic activity. *Sci Rep.* 12, 22522.
 - 25- Guerreiro, I., Serra, C. R., Pousão-Ferreira, P., Oliva-Teles, A and Enes, P. 2018a. Prebiotics effect on growth performance, hepatic intermediary metabolism, gut microbiota and digestive enzymes of white sea bream (*Diplodus sargus*). *Aquacult Nutr.* 24: 153–163.
 - 26- Guerreiro, I., Serra, C. R., Oliva-Teles, A and Enes, P. 2018b. Short communication: gut microbiota of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) is modulated by short-chain fructooligosaccharides and xylooligosaccharides. *Aquacult Int.* 26: 279–288.
 - 27- Holt, J. G., Krieg, R. N and Sneath, P. H. A., Staley, J. T and Williams, S. T. 1994. *Bergeys manual of determinative bacteriology* ninth edition, Williams & wilkins. United States.
 - 28- Hoseinifar, S. H., Khalili, M and Sun, Y.-Z. 2016a. Intestinal histomorphology, autochthonous microbiota and growth performance of the oscar (*Astronotus ocellatus* Agassiz, 1831) following dietary administration of xylooligosaccharide. *J Ichthyol.* 32: 1137–1141.
 - 29- Hoseinifar, S. H., Ringø, E., Shenavar Masouleh, A and Esteban, M. Á. 2016b. Probiotic, prebiotic and synbiotic supplements in sturgeon aquaculture: a review. *Rev Aquacult.* 8: 89–102,
 - 30- Hung, S. S. O. 2017. Recent advances in sturgeon nutrition. *Anim Nutr.* 3 (3): 191-204.
 - 31- Lee, D. H., Lim, S and Lee, S. 2021. Dietary protein requirement of fingerling sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*). *J Appl Ichtiol.* 37: 687 – 696.
 - 32- Li, X., Ringø, E., Hoseinifar, S. H., Lauzon, H., Birkbeck, H and Yang, D. 2019. Adherence and colonisation of microorganisms in the fish gastrointestinal tract. *Rev Aquacult.* 11: 603 – 618.
 - 33- Nithya, V and Halami P.M. 2013. Evaluation of the probiotic characteristics of *Bacillus* species isolated from different food sources. *Ann Microbiol.* 63: 129–137.

- 34- Ring, E., Hoseinifar, H., Ghosh, K., Doan, H. V., Beck, B. R and Song, S. K. 2018. Lactic Acid Bacteria in Finfish—An Update. *Front Microbiol.* 9: 1 -37.
- 35- Rowan, N. J., Deans, K., Anderson, J. G., Gemmell, C. G., Hunter I. S. and Chaithong T. 2001. Putative virulence factor expression by clinical and food isolates of *Bacillus* spp. after growth in reconstituted infant milk formulae. *Appl Environ Microbiol.* 67: 3873–3881.
- 36- Seifzadeh, M., Rabbani Khorasgani, M and Shafiei, R. 2019. Study on probiotic potential of *Bacillus* species isolated from the intestine of farmed Rainbow Trout, *Oncorhynchus Mykiss*. *Int J Aquat Biol.* 7: 166 – 174.
- 37- Teng, L. J., Hsueh, P. R., Huang, Y. H and Tsai, J.C. 2004. Identification of bacteroides thetaiotaomicron on the basis of an unexpected specific amplicon of universal 16S ribosomal DNA PCR. *J Clin Microbiol.* 42: 1727–1730.
- 38- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.-H., and Whitman, W.B. 2011. *The Firmicutes: A Chapter in the Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Edition, (Berlin, Germany: Springer Science & Business Media).
- 39- Zawistowska-Rojek, A., Zaręba, T and Tyski, S. 2022. Microbiological Testing of Probiotic Preparations. *Int J Environ Res Public Health.* 19: 5701.

Investigating the effect of prebiotic Biomin EPE on the total bacterial counts and *Lactobacillus* bacteria in the intestines of Sterlet (*Acipenser ruthenus*) and Bester cultured (*Huso huso* × *Acipenser ruthenus*)

Seifzadeh M.¹, Nasri Tajan M.^{2*} and Taati R.³

¹ National Fish Processing Research Center, Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, I.R. of Iran.

² Dept. of Fisheries, Bandare Anzali Branch, Islamic Azad University, Bandare Anzali, I.R. of Iran.

³ Dept. of Fisheries, Talesh Branch, Islamic Azad University, Talesh, I.R. of Iran.

Abstract

Lactobacillus in the intestine of fish act as biological protector and can lead to the improvement of the health of meat after catching, therefore increasing their number in the intestine is considered important. The aims of this study were evaluating the effect of biomin on the total bacterial counts and *Lactobacillus* in the Bester and Sterlet intestine, their growth rate, and comparing them with the control. The treatments included fish fed with zero (control), 1, 1.5, and 2 g/kg biomin. 72 fish of each species with an average weight of 48 and 86 g based on 5% weight were fed by hand for 60 days. At the end of farming period, the length (44.50-30.95 cm) and weight (112.76 - 374.36g) showed a significant increase in the 2% Biomin compared to other treatments. With the increase in the amount of biomin in the diet, despite the decrease in total bacterial counts, *Lactobacillus* increased ($P>0.05$). Total bacterial counts between Sterlet (4.21-4.41CFU) and Bester (4.32-4.49CFU) in concentrations of 1-2% biomin compared to the control (4.49-4.58CFU) did not show a significant difference ($P>0.05$). At the same levels in Sterlet (1.46-1.89CFU) and Bester (1.49-1.94 CFU) compared to the control (1.39-1.45CFU) a higher of *Lactobacillus* was observed ($P>0.05$). Bacterial agents did not differ significantly between experimental treatments ($P>0.05$). Since the use of Biomin (2%) *Lactobacillus* increased in fish compared to the control and led to an increase in the growth of fish, therefore its use is recommended for feeding fish.

Key words: Bester sturgeon, Biomin PEP, Intestinal bacterial flora, *Lactobacillus* bacteria, Sterlet fish.