دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره هفتم، شماره اول، بهار ۹۸
http://jair.gonbad.ac.ir

تأثیرات پلی‌بتاهیدروکسی‌بوتیرات (Poly-β-hydroxybutyrate) و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن (*Acidovorax* sp) بر شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک و فعالیت متابولیکی باکتری‌های روده در بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری *Acipenser baerii* Brandt, 1869

ابراهیم حسین نجدگرامی*[1]، پیتر بوسیر[2]
[1]دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
[2]استاد، مرکز رفرانس آرتمیا، دانشکده مهندسی علوم زیستی، دانشگاه گنت، گنت، بلژیک

تاریخ ارسال: ۹۴/۱۱/۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۲۵

چکیده

۵۹۲ بچه‌ماهی تاسماهی سیبری (*A.baerii*) (۱۱/۱ ±۰/۹ g) به صورت تصادفی در ۱۶ حوضچه فایبر گلاس ۱۵۰ لیتری با تراکم ۳۷ ماهی در هر حوضچه در ۴ تیمار (کنترل، باکتری‌های تجزیه‌کننده، ۲٪ PHB و ترکیب PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن) و ۴ تکرار به مدت ۶۰ روز پرورش داده شدند. نتایج طرح نشان داد که استفاده از تیمارهای غذایی تأثیر معنی‌دار بر شاخص وزن نهایی در بچه‌ماهیان ندارد ولی استفاده از PHB و تیمار باکتری به‌طور معنی‌داری میزان ضریب تبدیل غذایی را کاهش می‌دهد. همچنین نتایج نشان داد که استفاده از تیمارهای غذایی، به‌طور معنی‌داری درصد چربی ماهیچه را نسبت به تیمار کنترل کاهش می‌دهد. فعالیت متابولیکی باکتری‌های انتهای روده بچه‌ماهیان با روش مصرف اکسیژن بیوشیمیایی (BOD_5) و با استفاده از سیستم Oxitop® مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت pH محلول اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بالاترین فعالیت متابولیکی باکتری‌ها در تیمار PHB مشاهده شدکه با نتایج شاخص‌های رشد هم‌خوانی داشت. همچنین نتایج مقدار pH نشان داد که پایین‌ترین میزان آن در تیمارهای PHB و تیمار باکتری مشاهده شد که دارای اختلاف معنی‌دار با کنترل و تیمار باکتری با PHB بود. باتوجه به نتایج این طرح، استفاده از PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن باتوجه به تأثیر مثبت آنها، می‌تواند یکی از گزینه‌های مورد بررسی برای افزایش راندمان تولید صنعت آبزی‌پروری باشد.

***واژه‌های کلیدی*: *A. baerii* ، پلی‌بتاهیدروکسی‌بوتیرات، فعالیت متابولیکی**

*نویسنده مسئول: e.gerami@urmia.ac.ir

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]

مقدمه

در میان ماهیان آب شیرین، تاسماهیان به‌خاطر خاویار و گوشت با ارزش خود، دارای اهمیت زیادی می‌باشند (Gisbert and Williot, 2002). در این میان، تاسماهی سیبری (*A. baerii*) به‌خاطر رشد سریع ، مقاومت در برابر بیماری‌ها و تراکم‌پذیری بالای آن در نقاط مختلف دنیا (فرانسه از سال ۱۹۸۲، ایتالیا از سال ۱۹۹۰، آلمان از سال ۱۹۹۳ و بلژیک و لهستان از سال ۱۹۹۵) پرورش داده می‌شود (Najdegerami *et al*., 2011). پرورش تاسماهیان تحت شرایط متراکم، باعث افزایش استرس‌های محیطی و در نتیجه کاهش رشد و مقاومت در برابر بیماری‌های باکتریایی و ویروسی در مزارع پرورش تاسماهیان می‌شود که این مسئله در بعد کلان آن از چالش‌های اساسی رشد صنعت آبزی‌پروری است (Bauer *et al*., 2002; Conte, 2004).

در گذشته، از آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان بسیاری از بیماری‌های باکتریایی و همچنین محرک رشد در آبزیان استفاده می‌شد ولی ممنوعیت استفاده از آنها در بخش تولیدات حیوانی (آبزیان و حیوانات اهلی)، محققان را به یافتن روشهای جایگزین ترغیب کرده است (De Schryver *et al*., 2009). یکی از روش‌های پیشنهادی برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیره (SCFAs) است که محصول نهایی تخمیر پری‌بیوتیک‌ها به‌وسیله میکروارگانیسم‌های مفید در روده جانداران است (Defoirdt *et al*., 2007a). منابع در دسترس درباره تأثیرات این دسته از مواد در آبزیان محدود و نتایج آنها گاهی متناقض می‌باشد. براساس منابع موجود، اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیره با کاهش pH روده و افزایش جذب عناصر کمیاب (Scholz-Aherns and Schrezenmeir, 2007; Scholz-Aherns *et al*., 2002)، تأثیر بر متابولیسم چربی‌ها در بدن جانداران (Mussatto and Mancilha, 2007)، افزایش رشد باکتری‌های مفید روده (Probiotics) و کاهش رشد پاتوژن‌هایی مانند *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* باعث افزایش رشد در جانداران می‌شوند (Van Immerseel *et al*. 2003; Defoirdt *et al*., 2007b).

پلی‌بتاهیدروکسی‌بوتیرات (PHB) یکی از ترکیبات کربنی خانواده پلی‌بتا هیدروکسی آلکانات‌ها است که به عنوان ذخیره منبع کربنی در سلول مورد استفاده قرار می‌گیرد (Kato *et al*., 1992; Patnaik, 2005). این ماده در شرایطی که میزان منابع کربنی محیط زیاد و برعکس میزان نیتروژن محیط کم است در طیف وسیعی از باکتری‌ها به عنوان منبع ذخیره کربنی تشکیل می‌شود (Van Cam *et al*., 2009; Defoirdt *et al*., 2007a). براساس مطالعات صورت گرفته، این ماده در اثر فعالیت آنزیمهای گوارشی موجود و همچنین تخمیر میکروبی انتهای روده، تبدیل به بتاهیدروکسی بوتیریک اسید می‌شود که دارای کارکردی مشابه اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیره می‌باشد (Defoirdt *et al*., 2007b). تأثیر مثبت این ماده در افزایش مقاومت آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) در برابر Vibriosis

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]

(Van Cam *et al*., 2009;)، بهبود شاخص‌های رشد و همچنین افزایش تنوع باکتریایی روده در بچه‌ماهیان سی‌باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) (De Schryver *et al*., 2009) و تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) (Najdegerami *et al*., 2011)، افزایش رشد و کاهش میزان گونه‌های ویبریو در میگوی دراز آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) (Nhan *et al*., 2010) گزارش شده است. همچنین نتایج مطالعات انجام شده به‌وسیله نجدگرامی و همکاران (Najdegerami *et al*., 2011) نشان داد که استفاده از PHB در سطح جایگزینی ۲٪ باعث افزایش فعالیت متابولیکی باکتری‌های بیهوازی و هوازی روده بزرگ بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری می‌شود. آنها در این مطالعه برای بررسی فعالیت متابولیکی این باکتری‌ها از روشCommunity Level Physiological Profile که از طریق میکروپلت‌های Bilog^{TM} Ecoplate اندازه‌گیری می‌شد، استفاده کردند.

باتوجه به تأثیر مثبت استفاده از پلیمر طبیعی PHB بر شاخص‌های زیستی مختلف آبزیان، به نظر می‌رسد کمک به تخمیر و تجزیه بیشتر این ماده در دستگاه گوارش آبزیان روند تأثیر مثبت این ماده را تشدید کند. بنابراین جداسازی باکتری‌های تجزیه‌کننده این ماده از دستگاه گوارش آبزیانی که قبلاً از PHB استفاده کرده‌اند و اضافه کردن دوباره آن به غذا همراه با PHB، شاید بتواند روند تأثیر مثبت این ماده را افزایش دهد. این طرح با هدف بررسی تأثیر استفاده توام PHB و همچنین باکتری‌های تجزیه‌کننده آن بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و همچنین فعالیت متابولیکی باکتری‌های انتهای روده در بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

برای بررسی تأثیر استفاده توام PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن، بر پارامترهای مورد بررسی، تعداد ۵۹۲ عدد بچه‌ماهی تاسماهی سیبری با وزن اولیه ۰/۹±۱۱/۱ گرم، به مدت یک هفته در یک حوضچه ۱۰۰۰ لیتری برای سازگاری با شرایط سالن تکثیر و پرورش نگهداری شدند. در مرحله بعد بچه‌ماهیان به مدت ۶۰ روز در ۱۶ حوضچه فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۱۵۰ لیتر و با تراکم ۳۷ عدد بچه‌ماهی در هر حوضچه، با جیره‌های تحقیقاتی مورد تغذیه قرار گرفتند. غذای تجاری مورد استفاده در این آزمایش از کارخانه Joosen-luyckx, Aqua Bio, Belgium تهیه شد که محتوی و آنالیز تقریبی آن در جدول ۱ ارائه شده است. آب حوضچه‌های فایبرگلاس از آب لوله‌کشی شهری که پس از هوادهی و خروج گاز دی اکسیدکربن و جذب اکسیژن وارد سیستم می‌شد تأمین گردید. دمای آب، اکسیژن محلول و pH آب قبل از ورود به حوضچه‌های فایبرگلاس به ترتیب ۱۸درجه سانتی‌گراد، ۷ میلی‌گرم در لیتر و ۷/۶ بود. رژیم نوری مورد استفاده در این طرح ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. در این طرح از ۴ تیمار غذایی به شرح زیر استفاده شد:

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]

۱- جیره پایه (کنترل)، ۲- جیره پایه حاوی دو گونه باکتری (*Acidovorax* spp. G3DM-41 and BSB421) تجزیه‌کننده PHB هر کدام با تراکم 10^7 CFU/g feed، ۳- جیره پایه حاوی ۲٪ PHB (۲٪ کل جیره با PHB جایگزین شده است)، ۴- جیره حاوی ترکیب ۲٪ PHB و باکتری‌های فوق.

برای تهیه جیره ۲٪ PHB (تیمارهای سوم و چهارم)، میزان دو درصد از غذای روزانه بچه‌ماهیان از نظر وزنی کسر می‌شد و به‌جای آن، همان مقدار از PHB در محلول کلروفرم و آب به نسبت ۸۰ به ۲۰ حل و روی غذا اسپری گردید. برای تبخیر کلروفرم، غذای حاوی PHB به مدت دو روز در هوای آزاد و در ۲۰ درجه نگهداری و بعد از بسته بندی به ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل شد (Najdegerami *et al*., 2011; De Schryver *et al*., 2009). غذادهی بچه‌ماهیان براساس سیری ظاهری صورت گرفت.

برای تهیه تیمار باکتری در این طرح، از دو باکتری با نامهای S4 وS7، که به‌وسیله لیو و همکاران (Liu *et al*., 2010) از محتوی روده بزرگ بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری (Spiral valve) که از جیره حاوی ۵٪ PHB به مدت ۴۵ روز تغذیه کرده جداسازی شده بود، استفاده شد. نتایج توالی‌یابی (DNA sequencing) روی این دو باکتری نشان داد که S4 و S7 به ترتیب با احتمال ۹۹ و ۹۶/۹ درصد متعلق به *Acidovorax spp*. از جنس Acidovorax می‌باشند. باکتری‌های جداشده در این آزمایش در محیط LB broth به مدت ۴۸ ساعت در ۲۲ درجه سانتی‌گراد به صورت جداگانه کشت داده شدند و پس از سانتریفیوژ کردن و شستن آنها با بافر فسفات استریل (pH= 7.4) و شمارش آنها، میزان 10^7 CFU/g feed از هر کدام پس از حل کردن در محلول ۰/۲ درصد کلسیم آلژینات روی غذا (تیمارهای دوم و چهارم) اسپری شد. استفاده از آلژینات در این آزمایش به منظور چسبیدن باکتری‌ها به پلت‌های غذایی انجام شد. برای اطمینان از وجود تراکم مورد نظر باکتری‌ها در غذا، عمل اضافه‌کردن آنها به صورت روزانه برای تیمارهای دوم و چهارم انجام شد. برای اطمینان بیشتر، در هر هفته ۳-۲ بار در انتهای روز از غذای بچه‌ماهیان نمونه‌برداری و تراکم باکتری‌ها آزمایش گردید.

در انتهای دوره پرورش شاخص‌های وزن نهایی، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، فاکتور وضعیت، شاخص هپاتوسوماتیک، نسبت وزن روده به بدن و در نهایت میزان غذای ورودی به ازای هر ماهی در هر روز براساس فرمول‌های زیر محاسبه شد (Palmegiano *et al*., 2006; Najdegerami *et al*., 2011).

Weight gain (g) = W2 – W1
Feed conversion ratio (FCR) = feed consumption (g) / weight gain (g)
Specific growth rate (SGR) = $[(\text{Ln } w2 - \text{Ln } w_1) / t] \times 100$
Condition factor (CF) = W / L^3
Hepatosomatic index (%) = [liver weight (g) / body weight (g)] × 100
Gut ratio (%) = [gut weight (g)/ body weight (g)] × 100

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]

جدول ۱- ترکیب تقریبی جیره پایه مورد استفاده در آزمایش شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک و فعالیت متابولیکی باکتری‌های روده در بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری (*A. baerii*)

اجزاء غذایی	درصد	ترکیب تقریبی	درصد
پودر ماهی	۴۸	پروتئین خام	۴۵
آرد گندم	۱۵	چربی	۱۸
روغن ماهی	۱۵	فیبر	۱
پودر سویا	۱۳	خاکستر	۸
پودر خون	۷	فسفر	۱/۱
ویتامین ها و مواد معدنی[1]	۲		

ویتامین E : ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، ویتامین D3 : ۳۰۰۰ واحد در کیلوگرم، ویتامین A ۲۲۵۰۰ واحد در کیلوگرم، ویتامین C ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا، سولفات مس: ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا

بعد از ۶۰ روز تغذیه با تیمارهای غذایی، ترکیب بدنی لاروها باتوجه به روش‌های استاندارد مورد بررسی قرار گرفت (AOAC, 2000). محتوای خاکستر لاروها با قرار دادن میزان نمونه‌برداری شده در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱۶ ساعت به‌دست آمد. همچنین برای اندازه‌گیری درصد پروتئین خام در ترکیب بدنی لاروها، ابتدا نیتروژن آن به‌وسیله روش کجلدال محاسبه و مقدار به‌دست آمده در عدد ۶/۲۵ ضرب شد (AOAC, 2000). اسیدهای چرب متیل استر (FAME) بافت ماهیچه و کبد با استفاده از روش لیپگ و روی (Lepage and Roy, 1984) تهیه شد و با استفاده از یک دستگاه گازکروماتوگرافی آنالیز شد. برای این کار بافت ماهیچه زیر باله پشتی و همچنین کبد ۳ عدد بچه‌ماهی از هر تکرار (۹ عدد در هر تیمار) در انتهای دوره پرورشی، نمونه‌برداری شد و پس از مخلوط کردن، نمونه‌ای از آن برای آنالیز پروفیل اسیدهای چرب برداشته شد.

در این آزمایش برای بررسی فعالیت متابولیکی فعالیت باکتری‌های انتهای روده بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری در انتهای دوره پرورش استفاده شد. برای این منظور از سیستم (Weilheim, Germany) Oxitop® control system استفاده شد. در این سیستم، برای محاسبه BOD از بطری‌های تیره ۶۰۰ میلی‌لیتری که درب آنها حاوی سنسور مخصوص اندازه‌گیری اختلاف فشار اکسیژن بین داخل ظرف و خارج آن بود، استفاده شد (WTW, 2014). برای این منظور از هر تکرار تعداد ۳ عدد بچه‌ماهی بعد از بیهوشی، کالبدشکافی شدند و بلافاصله محتویات انتهای روده آنها خارج، میزان یک گرم از این مخلوط را در ۱۲۵ میلی‌لیتر از سرم فیزیولوژی حل کرده و پس از ورتکس کردن، حجم آن به ۲۵۰ میلی‌لیتر افزایش داده می‌شود. برای بطری بلانک از آب معمولی به میزان ۲۵۰ میلی‌لیتر استفاده شد. این مراحل براساس پروتکل شرکت سازنده سیستم Oxitop® انجام گرفت. اعداد خام به‌دست آمده در هر روز براساس فرمول مخصوص که در برنامه این سیستم وجود دارد به BOD تبدیل شد و در روز پنجم که

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]

انتهای آزمایش بود pH داخل ظروف اندازه گیری و به عنوان شاخصی برای غلظت احتمالی اسیدهای چرب کوتاه زنجیره حاصل از فعالیت میکروبی گزارش شد.

نتایج

نتایج تأثیر استفاده توام PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن بر شاخص‌های رشد، زنده‌مانی بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری بعد از ۶۰ روز تغذیه با تیمارهای غذایی در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که استفاده از PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن تأثیر معنی‌دار بر شاخص‌های وزن نهایی، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، فاکتور وضعیت، شاخص هپاتوسوماتیک و زنده‌مانی بچه‌ماهیان نداشت ($P>0.05$). اما تأثیر استفاده از این تیمارها بر شاخص‌های ضریب تبدیل غذایی و نسبت وزن روده به بدن معنی‌دار بود ($P<0.05$). پایین‌ترین ضریب تبدیل غذایی در بچه‌ماهیان تیمار باکتری دیده شد که باکتری‌های تجزیه‌کننده PHB به آنها اضافه شده بود (تیمار دوم) که با تیمار سوم که حاوی ۲٪ PHB بود، اختلاف معنی‌دار نداشت. بالاترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار کنترل و تیمار باکتری با PHB مشاهده شد که دارای اختلاف معنی‌دار با هم نبودند ($P>0.05$). شاخص نسبت وزن روده (Gut ratio) به کل بدن تحت تأثیر تیمارهای غذایی قرار گرفت و بالاترین مقدار این شاخص در بچه‌ماهیانی دیده شد که از تیمار سوم که حاوی ۲٪ PHB بود تغذیه کرده بودند که با تیمار کنترل که کمترین مقدار این شاخص در آن دیده شد، اختلاف معنی‌دار داشت ($P<0.05$). اختلاف معنی‌دار بین تیمار دوم، سوم و چهارم در این شاخص دیده نشد ($P>0.05$).

جدول ۲- نتایج استفاده از PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن بر شاخص‌های رشد، زنده‌مانی بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری (*A. baerii*) بعد از ۶۰ روز تغذیه با تیمارهای غذایی

	کنترل	باکتری	PHB	PHB + باکتری
وزن اولیه (گرم)	۱۱/۱ ± ۰/۹	۱۱/۰ ± ۰/۸	۱۱/۱ ± ۰/۷	۱۱/۴ ± ۰/۷
وزن نهایی (گرم)	۴۷/۹ ± ۳/۲	۵۰/۰ ± ۲/۱	۵۱/۲ ± ۳/۱	۴۹/۵ ± ۲/۷
افزایش وزن (گرم)	۳۶/۸ ± ۲/۶	۳۹/۰ ± ۲/۲	۴۰/۳ ± ۳/۲	۳۸/۱ ± ۲/۱
ضریب تبدیل غذایی	۰/۶۹ ± ۰/۰۴ [a]	۰/۶۳ ± ۰/۰۱ [b]	۰/۶۵ ± ۰/۱۴ [ab]	۰/۶۹ ± ۰/۰۲ [a]
ضریب رشد ویژه	۲/۹ ± ۰/۱	۳/۰ ± ۰/۱	۳/۰ ± ۰/۱	۲/۸ ± ۰/۰
فاکتور وضعیت	۰/۳۶ ± ۰/۰	۰/۳۵ ± ۰/۰	۰/۳۵ ± ۰/۰	۰/۳۴ ± ۰/۰
نسبت وزن روده به وزن بدن	۶/۸ ± ۰/۴ [b]	۷/۰ ± ۰/۲ [ab]	۸/۰ ± ۰/۵ [a]	۷/۱ ± ۰/۶ [ab]
نسبت وزن کبد به وزن بدن	۴/۲ ± ۰/۴	۴/۳ ± ۰/۱	۴/۰ ± ۰/۲	۳/۹ ± ۰/۶

* اعداد با حروف مختلف در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد هستند.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]

نتایج تأثیر تیمارهای غذایی بر ترکیب بدنی بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که استفاده توام از PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن تأثیر معنی‌دار بر درصد پروتئین و چربی بافت ماهیچه بچه‌ماهیان نداشت ($P>0.05$) اما به‌طور معنی‌داری میزان چربی بافت ماهیچه در بچه‌ماهیانی که از تیمارهای غذایی (تیمارهای دوم، سوم و چهارم) استفاده کرده بودند کاهش یافت ($P<0.05$). پایین‌ترین مقدار آن در تیمار ۲٪ PHB مشاهده شد.

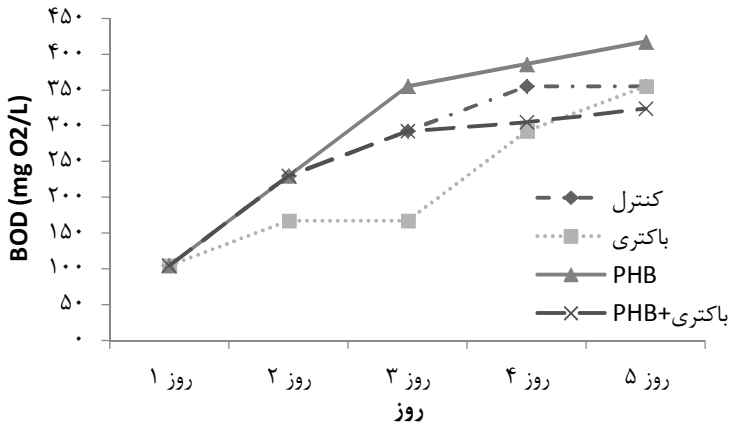
جدول ۳- ترکیب تقریبی بافت ماهیچه بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری (*A. baerii*) تغذیه‌شده با تیمارهای آزمایشی

	کنترل	باکتری	PHB	PHB + باکتری
پروتئین (درصد)	۶۵/۰ ± ۵/۸	۶۱/۵ ± ۵/۸	۶۷/۴ ± ۴/۱	۶۹/۰ ± ۳/۴
لیپید (درصد)	۲۸/۵ ± ۲/۵ [a]	۲۴/۱ ± ۱/۷ [b]	۲۳/۲ ± ۲/۱ [b]	۲۵/۱ ± ۰/۷ [b]
خاکستر (درصد)	۵/۱ ± ۰/۵	۴/۱ ± ۰/۵	۴/۳ ± ۰/۴	۵/۰ ± ۱/۰

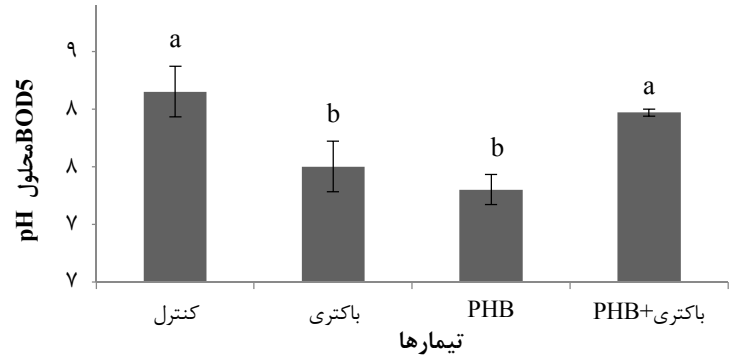
[*] اعداد با حروف مختلف در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد هستند.

نتایج فعالیت متابولیکی باکتری‌های انتهای روده بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری که به صورت نیاز اکسیژن بیوشیمایی (BOD) محاسبه شد در شکل ۱ آمده است. نتایج نشان داد که بعد از پنج روز فعالیت متابولیکی باکتری‌ها در سیستم ®Oxitop، بالاترین و پایین‌ترین میزان نیاز اکسیژن بیوشیمیایی سیستم در باکتری‌های انتهای روده بچه‌ماهیانی دیده شد که به ترتیب از تیمار ۲٪ PHB (سوم) و تیمار مخلوط PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن (چهارم) استفاده کرده بودند. همچنین pH محلول BOD بعد پنج روز فعالیت متابولیکی باکتریایی در سیستم ®Oxitop اندازه‌گیری شد که نتایج آن در شکل ۲ دیده می‌شود. نتایج این اندازه‌گیری نشان داد که پایین‌ترین میزان pH در تیمارهایی دیده شد که از PHB (تیمار ۳) و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن (تیمار ۲) استفاده کرده بودند که با تیمارهای کنترل و مخلوط PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P<0.05$).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]



شکل ۱- فعالیت متابولیکی باکتری‌های انتهای روده بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری (*A. baerii*)



شکل ۲- pH محلول BOD بعد پنج روز فعالیت متابولیکی باکتریایی در سیستم ®Oxitop

بحث و نتیجه‌گیری

در این طرح تأثیر استفاده از PHB و دو گونه جداسازی شده از باکتری‌های تجزیه‌کننده آن از روده بزرگ بچه‌ماهیان تاسمای سیبری، به صورت مجزا و ترکیب با هم، بر شاخص‌های رشد این گونه بررسی شد و نتایج نشان داد که استفاده از این تیمارها باعث بهبود شاخص‌های رشد مانند وزن نهایی، افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه و کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی در بچه‌ماهیانی می‌شود که از تیمارهای دوم (باکتری) و سوم (PHB) استفاده کرده بودند.

براساس تحقیقات انجام شده، PHB به‌عنوان یک پلیمر طبیعی می‌تواند بعد از تجزیه و تبدیل به اسید چرب کوتاه‌زنجیره β-hydroxybutyrate، تأثیرات مثبت در آبزیان داشته باشد (Kato *et al*.,

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]

1992; Patnaik, 2005, Defroidt *et al*., 2009). نتایج تحقیقات دی‌شریور و همکاران (De Schryver *et al*., 2009) و همچنین دی‌فویرث (Defoirdt, 2007a) نشان داد که ذرات PHB می‌توانند به‌عنوان یک منبع انرژی برای بچه‌ماهیان سی‌باس اروپایی و همچنین *A. franciscana* مطرح باشند (بقای بالای بچه‌ماهیان و ناپلی آرتمیا در تیماری که فقط از PHB استفاده شده بود). در مقابل استفاده از این ماده در جیره غذایی بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری و بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط نجدگرامی و همکاران (Najdegerami *et al*., 2011) تأثیر معنی‌دار بر شاخص‌های رشد این گونه‌ها نداشت که با نتایج حاصل از این طرح هم‌خوانی داشت. باتوجه به نتایج آزمایش‌های قبلی و نتیجه این آزمایش، به نظر می‌رسد تأثیر این ماده بسته به گونه و مرحله تکاملی موجود می‌تواند متفاوت باشد. همچنین در این مطالعه استفاده از باکتری‌های تجزیه‌کننده PHB شاخص‌های رشد را بهبود و میزان ضریب تبدیل غذایی را نسبت به تیمار کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش داد. به نظر می‌رسد گونه‌های جداسازی شده می‌توانند به عنوان کاندیدایی برای بحث پروبیوتیک‌ها مطرح باشند و عدم تأثیرگذاری معنی‌دار تیمار باکتری بر رشد بچه‌ماهیان می‌تواند به دلیل عدم تراکم مناسب مورد استفاده این باکتری‌ها در جیره‌غذایی و همچنین میزان کم‌ماندگاری آنها در طول دستگاه گوارش به علت حساسیت این باکتری-ها به اسید معده و سایر شرایط دستگاه گوارش باشد. دلایل ذکر شده از جمله معایب استفاده از پروبیوتیک در تیمارهای غذایی آبزیان می‌باشد که در مطالعات مختلف ثابت شده است.

استفاده از PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن، تأثیر معنی‌دار بر افزایش نسبت وزن روده به کل بدن داشت که نشان‌دهنده افزایش وزن روده در بچه‌ماهیانی است که از تیمارهای PHB، باکتری و ترکیب این دو استفاده کرده بودند. متأسفانه مطالعه‌ای در مورد تأثیر β-hydroxybutyrate بر رشد و تکثیر سلول‌های روده‌ای و به‌خصوص سلولهای اپی‌تلیال وجود ندارد. ولی براساس مطالعات انجام شده، سایر اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیره مانند اسید بوتیریک به عنوان منبع اصلی انرژی سلول‌های اپی‌تلیال روده مطرح می‌باشند و باعث افزایش میزان تکثیر سلول‌های اپی‌تلیال روده می‌شوند. از این طریق می‌توانند باعث افزایش درصد وزن روده به کل بدن شده و در نتیجه با افزایش سطح جذب روده، باعث افزایش رشد جاندار شوند. در این مطالعه بهبود شاخص وزن روده به وزن بدن در تیمارهای باکتری و PHB در این بخش، با نتایج بخش رشد در همان تیمارها در یک راستا می‌باشد که با نتایج مطالعات ساکاتا (Sakata, 1987) و شیپاچ (Scheppach, 1994) در موش‌های آزمایشگاهی، رودیگر (Roediger, 1980) در انسان، باکی‌مککلپ و همکاران (Bakke-McKellep *et al*., 2007) در سالمون آتلانتیک، گایلاتیو و همکاران (Guilloteau *et al*., 2009) در گوساله‌های جوان هم‌خوانی دارد.

در این مطالعه تأثیر استفاده از تیمارهای غذایی بر ترکیب بدنی بچه‌ماهیان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که استفاده از این تیمارها به‌طور معنی‌داری درصد چربی بدن را نسبت به کنترل

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]

کاهش می‌دهد. براساس مطالعات انجام شده، استفاده از PHB باعث تغییر فلور میکروبی روده لارو و بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری (Najdegerami *et al*., 2011) و بچه‌ماهیان سی‌باس اروپایی (De Schryver *et al.,* 2009) می‌شود و این تغییرات می‌تواند نقش کلیدی در متابولیسم چربی‌ها در بدن جانداران بازی کند (Delzenne and Williams, 2002; Delzenne *et al*., 2008). در این مطالعه فلور میکروبی روده در بچه‌ماهیان بررسی نشد ولی به نظر می‌رسد باتوجه به نتایج مطالعات قبلی تغییر در فلور میکروبی روده و همچنین نسبت اسیدهای چرب کوتاه زنجیره حاصل از تجزیه PHB باعث کاهش درصد چربی در بدن بچه‌ماهیان شده است.

در این آزمایش میزان فعالیت متابولیکی باکتری‌ها، با استفاده از میزان مصرف اکسیژن بیوشیمیایی (BOD) باکتری‌های انتهای روده بچه‌ماهیان سنجش شد و نتایج نشان داد که استفاده از PHB، میزان BOD سیستم را نسبت به سایر تیمارها افزایش می‌دهد. اندازه‌گیری میزان تنفس و مصرف اکسیژن بیوشیمایی (Biological oxygen demand) یا BOD به‌عنوان یک شاخص مهم فعالیت تجزیه‌کنندگی میکروبی در تحقیقات زیست‌محیطی مطرح است (Fialova *et al*., 2004). براساس مطالعات صورت گرفته توسط نجدگرامی و همکاران (Najdegerami *et al*., 2011) و نجدگرامی (Najdegerami, 2014) استفاده از PHB در سطح مشابه، باعث افزایش فعالیت متابولیکی باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری می‌شود. در مطالعات اخیر برای بررسی میزان فعالیت متابولیکی باکتری‌ها، از روش Community-Level Physiological Profiles، که با استفاده از میکروپلت‌های Biolog ^{TM} Ecoplate (Biolog Inc. Hayward, CA, USA) قابل محاسبه است استفاده شد. استدلال آنها برای افزایش فعالیت متابولیکی باکتریایی انتهای روده بچه‌ماهیان در تیمار PHB، تغییر فلور میکروبی سیستم با استفاده از PHB بود که باعث رشد برخی از باکتری‌ها از جمله *Bacillus sp.* و *Ruminococcaceae sp.* نسبت به تیمار کنترل بود. نتایج به‌دست آمده در این مطالعه با نتایج مطالعات نجدگرامی و همکاران (Najdegerami *et al*., 2011) و نجدگرامی (Najdegerami, 2014) هم‌خوانی دارد.

نتیجه این مطالعه نشان داد که استفاده از ترکیب PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن تأثیر مثبت بر شاخص‌های رشد و فعالیت متابولیکی باکتری‌های انتهای روده بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری ندارد اگرچه استفاده از متغیرهای مذکور به صورت مجزا باعث بهبود این متغیرها مخصوصاً در تیمار PHB می‌شود. همچنین نتایج نشان داد که استفاده از باکتری‌های تجزیه‌کننده PHB، تأثیر منفی بر شاخص‌های رشد در بچه‌ماهیان ندارد و در برخی شاخص‌ها از جمله ضریب تبدیل غذایی نقش کاهنده را بازی می‌کند بنابراین می‌تواند به‌عنوان یک کاندید برای بحث پروبیوتیک‌ها مطرح باشد که نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]

منابع

AOAC International. 2000. In: Horwitz W (Eds.). Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed. AOAC, Arlington, VA, USA.

Bakke-McKellep A., Penn M., Salas P., Refstie S., Sperstad S., Landsverk T., Ringo E., Krogdahl A. 2007. Effects of dietary soyabean meal, inulin and oxytetracycline on intestinal microbiota and epithelial cell stress, apoptosis and proliferation in the teleost Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). British Journal of Nutrition, 97: 699-713.

Bauer O., Pugachev O., Voronin V. 2002. Study of parasites and diseases of sturgeons in Russia: a review. Journal of Applied Ichthyology, 18: 420-429.

Conte F. 2004. Stress and the welfare of cultured fish. Applied Animal Behavior Science, 86: 205-223.

De Schryver P., Sinha A., Kunwar P., Baruah K., Verstraete W., Boon N., De Boeck G., Bossier P. 2009. Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) increases growth performance and intestinal bacterial range-weighted richness in juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Applied Microbiology and Biotechnology, 86: 1535-1541.

Defoirdt T., Boon N., Sorgeloos P., Verstraete W., Bossier P. 2007a. Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: luminescent vibriosis in aquaculture as an example. Trends in Biotechnology, 25: 472-479.

Defoirdt T., Halet D., Vervaeren H., Boon N., Van de Wiele T., Sorgeloos P., Bossier P., Verstraete W. 2007b. The bacterial storage compound poly-β-hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. Environmental Microbiology, 9: 445-452.

Delzenne N., Cani P., Neyrinck A. 2008. Prebiotics and Lipid Metabolism. ASM press. Washington, DC, USA. 218 P.

Delzenne N., Williams C. 2002. Prebiotics and lipid metabolism. Current Opinion in Lipidology, 13: 61-67.

Fialova A., Boschke E., Bley T. 2004. Rapid monitoring of the biodegradation of phenol-like compounds by the yeast Candida maltosa using BOD measurements. International Biodeterioration and Biodegradation, 54: 69-76

Gisbert E., Williot P. 2002. Advances in the larval rearing of Siberian sturgeon. Journal of Fish Biology, 60: 1071-1092.

Guilloteau P., Zabielski R., David J., Blum J., Morisset J., Biernat M., Wolinski J., Laubitz D., Hamon Y. 2009. Sodium-butyrate as a growth promoter in milk replacer formula for young calves. Journal of Dairy Science, 92: 1038-1049.

Kato N., Konishi H., Shimao M., Sakazawa C. 1992. Production of 3-hydroxybutyric acid trimer by *Bacillus megaterium* B-124. Journal of Fermentation and Bioengineering, 73: 246-247.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]

Lepage G., Roy C.C. 1984. Improved Recovery of Fatty Acid through Direct Transesterification without Prior Extraction or Purification. The Journal of Lipid Research, 25: 1391-1396.

Liu Y., De Schryver P., Van Delsen B., Maignien L., Boon N., Sorgeloos P., Verstraete W., Bossier P., Defoirdt T. 2010. PHB-degrading bacteria isolated from the gastrointestinal tract of aquatic animals as protective actors against luminescent vibriosis. FEMS Microbiology Ecology, 74: 196-204.

Mussatto S., Mancilha I. 2007. Non-digestible oligosaccharides: A review. Carbohydrate Polymers, 68: 587-597.

Najdegerami E.H. 2014. Effects of poly-β-hydroxybutyrate on metabolic diversity of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fingerlings hindgut anaerobic bacterial by using community level physiological profile. Nova Biologica Reperta, 1: 1-9

Najdegerami E.H., Ngoc Tran T., Defoirdt T., Marzorati M., Sorgeloos P., Boon N., Bossier P. 2011. Effects of Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) on Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*) Fingerlings Performance and its GI tract Microbial Community. Microbiology Ecology, 79: 25-33

Nhan D., Wille M., De Schryver P., Defoirdt T., Bossier P., Sorgeloos P. 2010. The effect of poly-β-hydroxybutyrate on larviculture of the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). Aquaculture, 302: 76-81.

Palmegiano G., Dapra F., Forneris G., Gai F., Gasco L., Guo K., Peiretti P., Sicuro B., Zoccarato I. 2006. Rice protein concentrate meal as a potential ingredient in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 258: 357-367.

Patnaik P. 2005. Perspectives in the modeling and optimization of PHB production by pure and mixed cultures. Critical Reviews in Biotechnology, 25: 153-171.

Roediger W. 1980. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. Journal of Gut, 21: 793-798.

Sakata T. 1987. Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: A possible explanation for trophic effects of fermentable® bre, gut microbes and luminal tropic factors. British Journal of Nutrition, 58: 95-103.

Scheppach W. 1994. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. Journal of Gut, 35: S35-S38.

Scholz-Ahrens K., Acil Y., Schrezenmeir J. 2002. Effect of oligofructose or dietary calcium on repeated calcium and phosphorus balances, bone mineralization and trabecular structure in ovariectomized rats. British Journal of Nutrition, 88: 365-377.

Scholz-Ahrens K., Schrezenmeir J. 2007. Inulin and oligofructose and mineral metabolism: The evidence from animal trials. Journal of Nutrition, 137: 2513-2523.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]

Van Cam DT., Hao NV., Dierckens K., Defoirdt T., Boon N., Sorgeloos P., Bossier P. 2009. Novel approach of using homoserine lactone degrading and poly-β-hydroxybutyrate accumulating bacteria to protect Artemia from the pathogenic effects of *Vibrio harveyi*. Aquaculture, 291: 23-30.

Van Immerseel F., De Buck J., Pasmans F., Velge P., Bottreau E., Fievez V., Haesebrouck F., Ducatelle R. 2003. Invasion of Salmonella enteriditis in avian intestinal epithelial cells in vitro is influenced by short chain fatty acids. Journal of Food Microbiology, 85: 237-248.

WTW. 2014. Instruction manual. Manometric BOD Measuring Devices. Available on (01/06/2014): http://www.globalw.com/downloads/WQ/oxitopis.pdf. 23 P.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2026-06-06]