دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"
دوره چهارم، شماره سوم، پاییز ۹۵
http://jair.gonbad.ac.ir

تأثیر پلیمر طبیعی پلی‌بتاهیدروکسی‌بوتیرات (Poly-β-hydroxybutyrate) و باکتری‌های تجزیه کننده آن بر متابولیسم چربی و pH دستگاه گوارش در بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری *Acipenser baerii* Brandt, 1869

ابراهیم حسین نجدگرامی*[1]، پیتر بوسیر[2]
[1]استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
[2]استاد مرکز رفرانس آرتمیا و آبزی‌پروری، دانشکده مهندسی علوم زیستی، دانشگاه گنت، بلژیک
تاریخ ارسال: ۹۵/۴/۱ ؛ تاریخ پذیرش ۹۵/۶/۲

چکیده

پلی به تا هیدروکسی بوتیرات (PHB) یک پلی مر طبیعی می‌باشد که در شرایط استرس‌زای محیطی در باکتری‌ها تولید می‌شود و تجزیه آن در دستگاه گوارش آبزیان باعث تولید اسیدچرب کوتاه زنجیره بتاهیدروکسی بوتیریک اسید می‌شود. تعداد ۵۹۲ بچه‌ماهی تاسماهی سیبری (*A. baerii*) با وزن اولیه ۰/۹ ±۱۱/۱ گرم، برای بررسی تأثیر پلی بتاهیدروکسی بوتیرات و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن بر متابولیسم چربی و pH دستگاه گوارش، به‌مدت ۶۰ روز با چهار تیمار جیره پایه، جیره پایه حاوی دو گونه باکتری (*Acidovorax* spp. G3DM-41 and BSB421) تجزیه کننده PHB هر کدام با تراکم 10^7 CFU/g feed، دو درصد PHB، باکتری‌های تجزیه کننده + دو درصد PHB) تغذیه شدند. در انتهای دوره پرورش نتایج نشان داد که استفاده از تیمارهای غذایی بر متابولیسم چربی در کبد و ماهیچه بچه‌ماهیان تأثیر گذاشته است. براساس این نتایج تأثیر معنی‌دار بر میزان اسیدهای چرب اشباع، تک غیر اشباع، اسید لینولئیک و میزان کل امگا ۶ ماهیچه در بین تیمارها دیده نشد. پایین‌ترین مقادیر اسیدهای چرب اسید لینولنیک، DHA, EPA و میزان کل امگا ۳ در ماهیچه در تیمار چهارم دیده شد که با ۳ تیمار اول دارای اختلاف معنی‌دار بود. همچنین استفاده از تیمارهای غذایی تنها بر میزان کل اسیدهای چرب امگا ۶ در کبد تأثیر گذار بود که به‌ترتیب بالاترین و پایین‌ترین مقادیر آن، به‌ترتیب در تیمار چهارم و سوم دیده شد که با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌دار بودند. pH دستگاه گوارش در انتهای دوره اندازه‌گیری شد و پایین‌ترین میزان آن در ۳ منطقه (ابتدای و انتهای روده کوچک، روده بزرگ)

*نویسنده مسئول: e.gerami@urmia.ac.ir

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

در بچه‌ماهیانی دیده شد که از تیمار سوم تغذیه کرده بودند که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود. نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن بر متابولیسم چربی و همچنین pH دستگاه گوارش در بچه‌ماهیان تاس‌ماهی سیبری تأثیرگذار است که می‌توان از این مسئله برای بهبود کیفیت گوشت بچه‌ماهیان و شاخص سلامت روده از آن استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: ***A. baerii***، **پلی‌مر، پلی به تا هیدروکسی بوتیرات، متابولیسم چربی، پریبیوتیک**

مقدمه

ممنوعیت استفاده از آنتی بیوتیکها در هر دو بخش آبزی‌پروری و تولیدات دامی، محققان را به یافتن روش‌های جایگزین برای کنترل میکروبی پاتوژن‌ها ترغیب کرده است (Sapkota *et al*., 2008; De Schryver *et al*., 2009). در بین روش‌های جایگزین، اسیدهای ارگانیک با توجه به تأثیرات ضد باکتریایی خود دارای اهمیت زیادی هستند (Thompson and Hinton, 1996; Vazquez *et al*., 2005). این دسته از مواد، با تولید عامل اسیدی H^+، به داخل باکتری‌های پاتوژن (از طریق انتشار) وارد می‌شوند و در نتیجه این باکتری‌ها برای خارج کردن این یون‌ها از سیتوپلاسم خود، مجبور به مصرف انرژی زیادی می‌شوند که این مسئله باعث کاهش رشد این دسته از باکتری‌ها شده و جمعیت آن‌ها در میزبان کاهش می‌یابد (Goncalves *et al*., 1997; Hismiogullari *et al*., 2008).

تحقیقات در مورد استفاده از اسیدهای ارگانیک در بخش آبزی‌پروری در مقایسه با سایر روش‌های جایگزین مانند پروبیوتیک‌ها، تا به امروز محدود بوده اگرچه پتانسیل آن در بحث‌های آبزیان در تحقیقات مختلف در گونه‌هایی مانند *Artemia franciscana* به‌عنوان گونه مدل به اثبات رسیده است (De Schryver *et al*., 2009). بر اساس نتایج این تحقیقات، استفاده از اسیدهای ارگانیک با غلظت ۲ گرم در لیتر، میزان بقاء آرتمیا فرانسیسکانا را در مواجهه با باکتری بیماری‌زای *Vibrio campbellii* دو برابر می‌کند (Defoirdt *et al*., 2006). با این‌حال استفاده از این اسیدها دارای محدودیت‌هایی در این صنعت می‌باشد که از جمله می‌توان به حلالیت بالای این دسته از مواد در محیط‌های آبی و در نتیجه خارج شدن مقادیر زیادی از این اسیدها حتی از پلت‌های غذایی اشاره کرد. بنابراین از نظر تئوری نیاز به مقادیر بالایی از این مواد هست که تأثیرات مثبت آن در گونه‌های آبزی دیده شود.

راه حل این مسئله در موادی مانند پلی بتاهیدروکسی بوتیرات (PHB) می‌باشد که به عنوان ذخیره منبع کربنی در سیتوپلاسم طیف وسیعی از باکتری‌ها، در شرایطی که میزان منابع کربنی محیط زیاد و برعکس میزان نیتروژن محیط کم است، تشکیل می‌شود (Halet *et al*., 2007; Van Cam *et al*., 2009; Defoirdt *et al*., 2007). بر اساس مطالعات صورت گرفته، این ماده در اثر فعالیت آنزیم‌های گوارشی موجود و همچنین تخمیر میکروبی انتهای روده، تبدیل به بتا هیدروکسی بوتیریک اسید

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

می‌شود که دارای کارکردی مشابه اسیدهای چرب کوتاه زنجیره می‌باشد (Defoirdt *et al*., 2007). تأثیر مثبت این ماده در افزایش مقاومت آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) در برابر Vibriosis (Halet *et al*., 2007; Van Cam *et al*., 2009)، بهبود شاخص‌های رشد، افزایش تنوع باکتریایی روده و همچنین کاهش pH 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.

با توجه به تأثیر مثبت استفاده از پلیمر طبیعی PHB بر شاخص‌های مختلف آبزیان، از نظر تئوری به نظر می‌رسد کمک به تخمیر و تجزیه بیشتر این ماده در دستگاه گوارش آبزیان روند تأثیر مثبت این ماده را تشدید کند. بنابراین اضافه‌کردن باکتری‌های تجزیه‌کننده این ماده به پلت‌های حاوی PHB شاید بتواند میزان تجزیه آن در روده آبزیان را افزایش داده و تأثیرات مثبت PHB را از جمله در کاهش pH دستگاه گوارش و همچنین متابولیسم اسیدهای چرب تغییر دهد. بنابراین این طرح با هدف بررسی تأثیر استفاده توام PHB و همچنین باکتری‌های تجزیه‌کننده آن بر متابولیسم چربی و همچنین pH قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش در بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری (*A.baerii*) طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش و جیره‌های غذایی: 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 آبزیان در مرکز رفرانس آرتمیا (دانشگاه گنت، بلژیک) نگهداری شدند. در مرحله بعد بچه‌ماهیان به‌مدت 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، پس از هوادهی و خروج گاز دی‌اکسیدکربن و جذب اکسیژن تأمین گردید. درجه حرارت آب، اکسیژن محلول و pH آب قبل از ورود به حوضچه‌های فایبرگلاس به‌ترتیب ۰/۶± ۱۸درجه سانتی‌گراد، ۰/۸±۷ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۲±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 2025-06-28]

۱- جیره تجاری (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 درصد PHB (۲ درصد کل جیره با PHB جایگزین شده است) ۴- جیره حاوی ترکیب ۲ درصد PHB و باکتری به شرح بالا.

برای تهیه جیره ۲ درصد PHB (تیمارهای سوم و چهارم)، میزان دو درصد از غذای روزانه بچه‌ماهیان از نظر وزنی کسر می‌شد و به جای آن، همان مقدار از PHB در محلول کلروفرم و آب به نسبت۸۰ به ۲۰ حل می‌شد و بر روی غذا اسپری می‌شد. برای تبخیر کلروفرم، غذای حاوی PHB به مدت دو روز در هوای آزاد و در ۲۰ درجه نگهداری می‌شد و بعد از بسته‌بندی به ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل می‌شد (Najdegerami *et al*., 2011; De Schryver *et al*., 2009).

برای تهیه تیمار باکتری در این طرح، از دو باکتری با نامهای S4 و S7، که به وسیله لیو و همکاران (Liu *et al.,* 2010) از محتوی روده بزرگ بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری تغذیه شده با جیره حاوی ۵ درصد PHB به‌مدت ۴۵ روز استفاده شد. نتایج توالی یابی (DNA sequencing) روی این دو باکتری نشان داده بود که S4 و S7 به‌ترتیب با احتمال ۹۹ و ۹۶/۹ درصد متعلق به *Acidovorax* spp. می‌باشد (Liu *et al*., 2010). باکتری‌های جدا شده در این آزمایش در محیط LB broth به‌مدت ۴۸ ساعت در ۲۲ درجه سانتی‌گراد به‌صورت 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 بر 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 اضافه کردن آنها به صورت روزانه برای تیمارهای دوم و چهارم انجام می‌شد. برای اطمینان بیشتر، هر هفته ۳-۲ بار در انتهای روز، میزان یک گرم از غذای بچه‌ماهیان نمونه‌برداری و پس از حل کردن در سرم فیزیولوژی، میزان باکتری‌های اضافه شده در غذا بررسی می‌شدند تا از غلظت باکتری‌ها اطمینان حاصل شود.

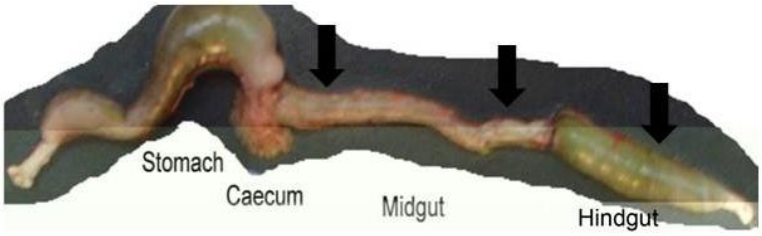
جدول ۱- ترکیب تقریبی جیره تجاری مورد استفاده برای تغذیه بچه‌ماهیان تاس‌ماهی سیبری (*A. baerii*)

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
ویتامین‌ها و مواد معدنی[1]	۲		

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

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

اندازه‌گیری pH دستگاه گوارش: در این بخش با توجه به اندازه بچه‌ماهیان میزان pH دستگاه گوارش در ۳ بخش ابتدای روده، انتهای روده و محتویات انتهای روده اندازه‌گیری شد (شکل ۱). برای این منظور تعداد ۳ عدد بچه‌ماهی از هر تکرار نمونه‌برداری شده و با استفاده از محلول ۲ میلی‌لیتر در لیتر ۲- فنوکسی اتانول بیهوش شده و pH ابتدا و انتهای روده با وارد کردن مستقیم بیوالکترود pH متر (Hamilton, Switzerland) در این نواحی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری pH محتویات انتهای روده، پس از برداشتن محتویات آن به نسبت ۱ به ۱۰ با آب دیونیزه مخلوط و پس بهم زدن به مدت ۱ دقیقه، pH آن اندازه‌گیری شد (Baruah *et al.,* 2007).



شکل ۱- دستگاه گوارش بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری (*A. baerii*) و اندازه‌گیری pH در محل‌های مشخص شده با نشانگر

اندازه‌گیری پروفیل اسیدهای چرب ماهیچه و کبد: اسیدهای چرب متیل استر بافت ماهیچه و کبد با استفاده روش Lepage and Roy (1984) تهیه شدند و با استفاده از یک دستگاه گازکروماتوگرافی آنالیز شدند. 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، برای آنالیز پروفایل اسیدهای چرب نمونه‌برداری شد و پس از مخلوط کردن، نمونه‌ای از آن برای آنالیز پروفیل اسیدهای چرب برداشته شد. بعد از بدست آمدن نتایج پروفیل اسیدهای چرب میزان شاخص‌های آتروجنیک و ترومبوجنیک با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد (Hosseini *et al*., 2010; Garaffo *et al*., 2011).

Atherogenic index = C12:0 + 4(C14:0) + C16:0 / MUFA+n3+n6

Thrombogenic index= C11:0 + C16:0 + C18:0 / 0.5(MUFA) + 0.5(n6) + 3(n3) + (n3/n6)

محاسبات آماری: داده‌های بدست آمده در این طرح قبل از انجام هرگونه آنالیز آماری از نظر همسان بودن واریانس‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس بر اساس روش‌های موجود آنالیز واریانس یک‌طرفه در نرم‌افزار آماری SPSS-17 در مورد آن‌ها اجرا شد. آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تعیین معنی‌دار بودن میانگین تیمارها و گروه‌بندی آنها در سطح اطمینان ۹۵ انجام شد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

نتایج

میزان pH ابتدا و انتهای روده کوچک و همچنین محتویات روده بزرگ بچه‌ماهیان، در انتهای دوره پرورش اندازه‌گیری شد که نتایج آن در جدول ۲ دیده می‌شود. بر اساس این نتایج پایین‌ترین میزان pH در ابتدای روده کوچک بچه‌ماهیانی دیده شد که از جیره غذایی دارای PHB استفاده کرده بودند که با تیمار کنترل دارای اختلاف معنی‌دار بود ($p<0.05$). الگوی مشابه ابتدای روده کوچک، در انتهای این اندام هم دیده شد و پایین‌ترین میزان pH در تیمار PHB دیده شد که با تیمارهای کنترل و چهارم اختلاف معنی‌دار داشت ($p<0.05$). همچنین پایین‌ترین میزان pH در محتویات انتهای روده بچه‌ماهیان در تیمار PHB دیده شد که با سایر تیمارهای غذایی دارای اختلاف معنی‌دار بود ($p<0.05$).

جدول ۲- pH دستگاه گوارش در بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری (*A. baerii*) در تیمارهای مختلف

pH دستگاه گوارش	جیره‌ها			
	کنترل	باکتری	PHB	PHB + باکتری
ابتدای روده کوچک	۷/۵ ±۰/۱۲ [a]	۷/۲ ± ۰/۱۲ [ab]	۷/۱ ± ۰/۱۳ [b]	۷/۳ ± ۰/۱۷ [ab]
انتهای روده کوچک	۷/۵ ±۰/۰۷ [a]	۷/۵ ± ۰/۱۳ [ab]	۷/۳ ± ۰/۱۲ [b]	۷/۵ ± ۰/۱ [a]
روده بزرگ	۸/۱۷ ±۰/۰۲ [a]	۸/۱۶ ± ۰/۰۱ [a]	۷/۸ ± ۰/۰۹ [b]	۸/۱ ± ۰/۱۵ [a]

- داده‌ها با حروف مختلف در سطح $p<0.05$ دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

نتایج ترکیب اسیدهای چرب ماهیچه و کبد بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است. بر اساس این نتایج استفاده از PHB و باکتری‌های تجزیه‌کننده آن در جیره غذایی بچه‌ماهیان، تأثیر معنی‌دار بر میزان اسیدهای چرب اشباع (SFA)، تک‌غیر اشباع (MUFA)، اسید لینولئیک (18:2n-6)، آراشیدونیک اسید (20:4n-6) و میزان کل اسیدهای چرب امگا ۶ ماهیچه نداشت ($p>0.05$). در حالی‌که میزان اسیدلینولنیک (18:3n-3)، ایکوزاپنتائنوئیک اسید (20:5n-3)، دی‌کوزاهگزانوئیک اسید (22:6n-3)، میزان کلی اسیدهای چرب امگا ۳ و همچنین نسبت امگا ۳ به امگا ۶، در ماهیچه بچه‌ماهیانی که از PHB + باکتری‌های تجزیه‌کننده (تیمار چهارم) تغذیه کرده بودند به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<0.05$).

کیفیت چربی در ماهیچه بچه‌ماهیان، با استفاده از شاخص‌های آتروجنیک و ترومبوجنیک ارزیابی شد (جدول ۳). بر اساس این نتایج استفاده از تیمارهای غذایی در این آزمایش تأثیر معنی‌دار بر میزان این شاخص‌ها در ماهیچه بچه‌ماهیان داشت و بالاترین میزان این شاخص‌ها در تیمارهای اول، دوم و سوم دیده شد که با تیمار چهارم که پایین‌ترین میزان آن‌ها را داشت اختلاف معنی‌دار داشتند ($p<0.05$).

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

جدول ۳- ترکیب اسیدهای چرب در ماهیچه بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری (*A. baerii*) در تیمارهای مختلف (درصد از کل)

اسیدهای چرب	جیره‌ها			
	کنترل	باکتری	PHB	PHB + باکتری
Total saturated	۲۳/۱ ± ۰/۰	۲۳/۴ ± ۰/۴	۲۳/۷ ± ۰/۳	۲۳/۰ ± ۰/۹
Total monoenoeic	۳۰/۳ ± ۰/۵	۳۰/۹ ± ۰/۷	۳۰/۷ ± ۰/۸	۲۹/۸ ± ۱/۱
18:2(n-6)	۴/۰ ± ۰/۲	۴/۲ ± ۰/۲	۴/۱ ± ۰/۱	۴/۳ ± ۰/۴
20:4(n-6)	۰/۵۵ ± ۰/۰	۰/۵۴ ± ۰/۰	۰/۵۴ ± ۰/۰	۰/۵۴ ± ۰/۰
Total n6	۵/۲ ± ۰/۳	۵/۳ ± ۰/۳	۵/۱ ± ۰/۱	۵/۴ ± ۰/۴
18:3(n-3)	۱/۶ ± ۰/۰ [a]	۱/۷ ± ۰/۰ [a]	۱/۶۷ ± ۰/۰ [a]	۱/۵۶ ± ۰/۰ [b]
20:5(n-3)	۷/۳ ± ۰/۲ [a]	۷/۱ ± ۰/۳ [a]	۷/۱ ± ۰/۱ [a]	۶/۷ ± ۰/۳ [b]
22:6(n-3)	۱۴/۷۹ ± ۰/۴۱ [a]	۱۴/۲۶ ± ۰/۴۲ [ab]	۱۴/۴۵ ± ۰/۶۷ [a]	۱۳/۵ ± ۰/۶۳ [b]
Total n-3	۲۹/۸ ± ۰/۷ [a]	۲۹/۰ ± ۰/۷ [a]	۲۹/۱ ± ۰/۸ [a]	۲۷/۳ ± ۱/۱ [b]
n3/n6	۵/۷ ± ۰/۲ [a]	۵/۵ ± ۰/۲ [ab]	۵/۶ ± ۰/۱ [a]	۵/۰ ± ۰/۵ [b]
AI	۰/۵۱ ± ۰/۰۱۲ [ab]	۰/۵۳ ± ۰/۰۱۲ [a]	۰/۵۲ ± ۰/۰۱۷ [a]	۰/۴۹ ± ۰/۰۲۸ [b]
TI	۹۸/۹ ± ۲/۰ [a]	۹۶/۴ ± ۲/۲ [a]	۹۵/۹ ± ۰/۸ [a]	۹۰/۷ ± ۳/۷ [b]

- داده‌ها با حروف مختلف در سطح $p<0.05$ دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

جدول ۴- ترکیب اسیدهای چرب در کبد بچه‌ماهیان تاسماهی سیبری (*A. baerii*) در تیمارهای مختلف (درصد از کل)

اسیدهای چرب	جیره‌ها			
	کنترل	باکتری	**PHB**	**PHB** + باکتری
Total saturated	۲۱/۵ ± ۰/۷	۲۱/۶ ± ۰/۳	۲۴/۴ ± ۰/۶	۲۱/۱ ± ۰/۶
Total monoenoeic	۳۷/۴ ± ۳/۳	۳۶/۵ ± ۰/۶	۳۷/۰ ± ۰/۸	۳۴/۵ ± ۰/۹
18:2(n-6)	۰/۴ ± ۰/۰	۰/۳۴ ± ۰/۰	۰/۳۴ ± ۰/۰	۰/۳۹ ± ۰/۰
20:4(n-6)	۰/۳۷ ± ۰/۰	۰/۳۹ ± ۰/۰	۰/۳۹ ± ۰/۰	۰/۳۹ ± ۰/۰
Total n6	۱/۴ ± ۰/۰ [ab]	۱/۳ ± ۰/۰ [ab]	۱/۳ ± ۰/۰ [b]	۱/۴ ± ۰/۰ [a]
18:3(n-3)	۱/۲ ± ۰/۲	۱/۳۶ ± ۰/۰	۱/۳۲ ± ۰/۱	۱/۳۴ ± ۰/۰
20:5(n-3)	۵/۰ ± ۰/۷	۵/۳ ± ۰/۳	۴/۷ ± ۰/۱	۵/۵ ± ۰/۴
22:6(n-3)	۱۱/۹ ± ۱/۰	۱۲/۶ ± ۰/۵	۱۲/۱ ± ۰/۶	۱۲/۸ ± ۱/۰
Total n-3	۲۴/۳ ± ۲/۶	۲۵/۶ ± ۱/۱	۲۴/۴ ± ۱/۴	۲۶/۲ ± ۱/۸
n3/n6	۱۷/۷ ± ۱/۶	۱۹/۰ ± ۱/۰	۱۸/۷ ± ۰/۹	۱۸/۱ ± ۱/۲

داده‌ها با حروف مختلف در سطح $p<0.05$ دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

الگوی تغییرات در کبد بچه‌ماهیان با آنچه که در ماهیچه مشاهده شد فرق داشت و این تغییرات مانند ماهیچه محسوس نبود. تنها تغییر انجام شده در میزان کل اسیدهای چرب امگا ۶ بود که بالاترین میزان آن در تیمار PHB + باکتری‌های تجزیه‌کننده و کم‌ترین آن در تیمار PHB بود که با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند ($p<0.05$) (جدول ۴).

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس تعریف پریبوتیک‌ها مواد غیر قابل هضمی هستند که از طریق تحریک رشد یک و یا تعداد خاصی از باکتری‌های روده، باعث تأثیرات مثبت در روده میزبان می‌شوند (Steer *et al*., 2003). تخمیر این دسته از مواد در انتهای روده که دارای تراکم بالایی از انواع باکتری‌ها می‌باشد باعث تولید محصولات نهایی مانند اسیدهای ارگانیک یا اسیدهای چرب کوتاه زنجیره (استات، پروبیونات، بوتیرات و لاکتات) می‌شود (Demigne *et al*., 1999; Cummings *et al*., 2001). اسیدهای ارگانیک می‌توانند به صورت مستقیم و همچنین غیر مستقیم (از طریق کاهش pH روده) باعث تغییرات فیزیولوژیک در بدن میزبان مانند افزایش تکثیر سلول‌های اپیتلیال و همچنین افزایش جذب عناصر معدنی شوند (Roberfroid and Delzenne, 1998; Scheppach *et al*., 2001). بر اساس فرضیه مطرح شده در تحقیقات، استفاده از PHB در تغذیه آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) باعث تولید اسید چرب کوتاه زنجیره بتا هیدروکسی بوتیریک اسید می‌شود که این گونه را در مواجهه با باکتری پاتوژن *Vibrio campbellii* محافظت می‌کند (Defoirdt *et al.,* 2007). نتایج این تحقیقات در سال‌های بعد با استفاده از این ماده در تغذیه سی‌باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) (De Schryver *et al.,* 2009)، تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) (Najdegerami *et al.,* 2011) و لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Najdegerami *et al.,* 2015) تأیید شد. نتایج این تحقیقات نشان داد که استفاده از PHB در سطح جایگزینی بین ۲ تا ۵ درصد باعث کاهش pH انتهای روده بچه‌ماهیان مورد بررسی می‌شود. بر اساس این نتایج، این کاهش pH می‌تواند از طریق تجزیه PHB و تولید بتابوتیریک اسید به وسیله آنزیم‌های گوارشی میزبان و همچنین فعالیت میکروبی انتهای روده بچه‌ماهیان اتفاق می‌افتد. در این تحقیق استفاده از PHB در سطح جایگزینی ۲ درصد باعث کاهش میزان pH ابتدا و انتهای روده کوچک و همچنین روده بزرگ شد ولی استفاده از باکتری‌های تجزیه‌کننده آن در تیمار چهارم و همچنین به صورت مستقل در تیمار دوم pH را کاهش نداد که نشان دهنده عدم کارایی باکتری‌های مورد نظر در پیش‌برد یکی از فرضیات این آزمایش در خصوص تشدید روند تبدیل PHB به بتابوتیریک اسید می‌باشد. دلایلی در این خصوص مطرح می‌باشد که از جمله می‌توان به عدم تراکم مناسب باکتری‌های مورد استفاده در جیره غذایی و همچنین میزان کم ماندگاری آن‌ها در طول دستگاه گوارش به علت حساسیت

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

این باکتری‌ها به اسید معده و سایر شرایط دستگاه گوارش اشاره کرد. دلایل ذکر شده از جمله معایب استفاده از میکروارگانیسم‌های زنده در تیمارهای غذایی آبزیان می‌باشد.

پریبیوتیک‌ها و محصولات نهایی تجزیه آن‌ها (اسیدهای چرب کوتاه زنجیره) دارای نقش اساسی در متابولیسم چربی‌ها هستند (Delzenne and Williams, 2002). این دسته از مواد از دو طریق می‌توانند بر متابولیسم چربی‌ها تأثیرگذار باشند. مسیر اول از طریق تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره می‌باشد که این مواد می‌توانند با تأثیر بر بالانس انرژی در روده و همچنین تاثیر منفی بر بیان ژن‌های فعال‌کننده آنزیم‌های چربی ساز مانند استیل کوآنزیم کربوکسیلاز، آنزیم مالیک، ATP سیترات لایز و آنزیم سازنده اسیدهای چرب در کبد، میزان ساخت و ساز تری‌آسیل گلیسرول‌ها را (TAG) که از منابع تولید و یا مصرف اسیدهای چرب هستند تغییر داده و در نهایت بر پروفیل اسیدهای چرب تاثیرگذار باشند (Aghelli *et al*., 1998; Delzenne and Kok, 1999, Delzenne *et al*., 2008). مسیر دوم از طریق تغییر فلور میکروبی روده میزبان می‌باشد که این تغییرات در نهایت خود باعث تولید غلظت‌های متفاوت اسیدهای چرب کوتاه زنجیره می‌شود که هر کدام از این اسیدهای چرب دارای عملکرد خاص خود در خصوص تغییرات این دسته از مواد هستند (Delzenne *et al*., 2008). این مسئله در نهایت می‌تواند در افزایش و کاهش میزان آنزیم‌های چربی ساز در بدن بسیار مؤثر می‌باشد (Reilly and Rombeau, 1993; Delzenne and Kok, 1999; Delzenne and Williams, 2002).

با توجه به محدویت‌های طراحی، امکان اندازه‌گیری اسیدهای چرب کوتاه زنجیره در روده و همچنین آنزیم‌های دخیل در بلند زنجیره‌سازی و غیر اشباع‌سازی اسیدهای چرب وجود نداشت تا بر اساس آنها به یک نتیجه‌گیری دقیق دست یافت. بنابراین دلایل اصلی تغییرات ایجاد شده در پروفایل اسیدهای چرب ماهیچه و کبد بچه‌ماهیان دقیقا مشخص نیست. ولی به نظر می‌رسد فرضیاتی که بر اساس نتایج تحقیقات قبلی استوار است در روشن شدن مسئله کمک زیادی کند. بر اساس نتایج آزمایشات انجام شده، استفاده از PHB در سطح ۵ و ۲ درصد به‌ترتیب باعث تغییر فلور میکروبی روده در بچه‌ماهیان باس دریایی اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) (De Schryver *et al.,* 2009)، تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) (Najdegerami *et al.,* 2011) می‌شود. بنابراین می‌توان بر اساس توضیحات بالا نتیجه‌گیری کرد این تغییر فلور میکروبی روده با تأثیر بر غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیره و دخالت در ساخت و ساز اسیدهای چرب، پروفیل آن‌ها را تغییر می‌دهد. همچنین ماده حاصل از تجزیه PHB اسید چرب کوتاه زنجیره بتابوتیریک اسید می‌باشد که در بحث تأمین انرژی در برخی از اندام‌ها نقش کلیدی دارد. بنابراین تغییر بالانس انرژی در بدن میزبان می‌تواند فعل و انفعال منجر به تولید و یا تجزیه چربی‌ها در کبد را تغییر دهد.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

نتایج این طرح نشان داد که استفاده از PHB باعث افزایش اسیدیته دستگاه گوارش و مساعد شدن محیط روده برای عملکرد بهتر باکتری‌های اسیدوفیل مانند لاکتوباسیلوس‌ها و باسیلوس‌ها می‌شود. بنابراین می‌تواند به عنوان یکی از مواد جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در کنار سایر مواد طبیعی در کاهش باکتری‌های پاتوژن مطرح باشد. همچنین این نتایج نشان داد که استفاده از باکتری‌ها در تراکم مورد استفاده در این تحقیق، توانایی تجزیه بیشتر PHB در محیط روده را ندارد و همچنین باعث کاهش میزان اسیدهای چرب امگا ۳ در بافت ماهیچه می‌شود که نیاز به بررسی بیشتر در این خصوص دارد.

منابع

Aghelli N., Kabir M., Berni-Canani S., Petitjean E., Boussairi A., Luo J., Bornet F., Slama G., Rizkalla S. 1998. Plasma lipids and fatty acid synthase activity are regulated by short-chain fructo-oligosaccharides in sucrose-fed insulin-resistant rats. Journal of Nutrition, 128(2): 1283-1288.

Baruah K., Sahu N.P., Pal A.K., Jain K.K., Debnath D., Mukherjee S.C. 2007. Dietary microbial phytase and citric acid synergistically enhances nutrient digestibility and growth performance of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles at sub-optimal protein level. Aquaculture Research, 38(3) :109–120.

Cummings H., Macfarlane G.T., Englyst H.N. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. The American Journal of Clinical Nutrition, 73(1): 415-420.

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(2): 1535-1541.

Defoirdt T., Boon N., Sorgeloos P., Verstraete W., Bossier P. 2007. Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: luminescent vibriosis in aquaculture as an example. Trends in Biotechnology, 25(2): 472-479.

Defoirdt T., Halet D., Sorgeloos P., Bossier P., Verstraete W. 2006. Short-chain fatty acids protect gnotobiotic Artemia franciscana from pathogenic *Vibrio campbellii*. Aquaculture, 261(4): 804-808.

Demigne C., Remesy C. Morand C. 1999. Short chain fatty acids. In: Gibson G., Roberfroid M. (Eds.). Colonic Microbiota, Nutrition and Health. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, pp: 55–70.

Delzenne N., Cani P., Neyrinck A. 2008. Prebiotics and lipid metabolism. CRC Press, 218P.

Delzenne N., Kok N. 1999. Biochemical basis of oligofructose-induced hypolipidemia in animal models. Journal of Nutrition, 129(7): 1467-1470.

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

Garaffo M.A., Vassallo-Agius R., Nengas Y., Lembo E., Rando R., Maisano R., Dugo G. Giuffrida D. 2011. Fatty Acids Profile, Atherogenic (IA) and Thrombogenic IT) Health Lipid Indices, of Raw Roe of Blue Fin Tuna (*Thunnus thynnus* L.) and Their Salted Product "Bottarga". Food and Nutrition Sciences, 2(1): 736-743.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

Goncalves L.M.D., Ramos A., Almeida J.S., Xavier A., Carrondo M.J.T. 1997. Elucidation of the mechanism of lactic acid growth inhibition and production in batch cultures of *Lactobacillus rhamnosus*. Applied Microbiology and Biotechnology, 48(2): 346–350.

Halet D., Defoirdt T., Van Damme P., Vervaeren H., Forrez I., Van de Wiele T., Boon N., Sorgeloos P., Bossier P., Verstraete W. 2007. Poly-β-hydroxybutyrate-accumulating bacteria protect gnotobiotic *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. FEMS Microbiology Ecology, 60(3): 363-369.

Hismiogullari S.E., Hismiogullari A.A., Sahin F., Oner E.T., Yenice S., Karasartova D. 2008. Investigation of antibacterial and cytotoxic effects of organic acids including ascorbic acid, lactic acid and acetic acids on mammalian cells. Journal of Animal and Veterinary Advances, 7(3): 681–684.

Hosseini S.V., Kenari A.A., Regenstein J.M., Rezaei M., Nazari R.M., Moghaddasi M., Kaboli S.A., Grant A.A.M. 2010. Effects of Alternative Dietary Lipid Sources on Growth Performance and Fatty Acid Composition of Beluga Sturgeon, *Huso huso* juveniles. Journal of World Aquaculture Society, 41(3): 4-14.

Lepage G., Roy C.C. 1984. Improved recovery of fatty acids through direct transesterification without prior extraction or purification. Journal of Lipid Research, 25(2): 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(2): 196-204.

Najdegerami E.H., Bakhshi F., Tokmechi A., Shiri Harzevili A., Sorgeloos P., Bossier P. 2016. Dietary effects of poly-β-hydroxybutyrate on the growth performance, digestive enzyme activity, body composition, mineral uptake and bacterial challenge of rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition, DOI: 10.1111/anu.12386.

Najdegerami E., Ngoc Tran T., Defoirdt T., Marzorati M., Sorgeloos P., Boon N., Bossier P. 2011. Affects of Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) on Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*) Fingerlings Performance and its GI tract Microbial Community. Microbiology ecology, 79(2): 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(4): 76-81.

Reilly J.K., Rombeau J.L. 1993. Metabolism and poten- tial clinical applications of short-chain fatty acids. Clinical Nutrition, 12(1): 97–105.

Roberfroid M., Delzenne N. 1998. Dietary fructans. Annual Review of Nutrition, 18(2): 117–143.

Sapkota A., Sapkota A.R., Kucharski M., Burke J., McKenzie S., Walker P., Lawrence R. 2008. Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. Environmental International, 34(2): 1215–1226.

Scheppach W., Luehrs H., Menzel T. 2001. Beneficial health effects of low-digestible carbohydrate consumption. The British Journal of Nutrition, 85: 23–30.

Steer T.E., Johnson I.T., Gee J.M., Gibson G.R. 2003. Metabolism of the soyabean isoflavone glycoside genistin in vitro by the human gut bacteria and the effect of prebiotics. British Journal of Nutrition, 90(2): 635-42.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]

Thompson J.L., Hinton M. 1996. Effect of short-chain fatty acids on the size of enteric bacteria. Letters in Applied Microbiology, 22(2): 408–412.

Van Cam D.T., Hao N.V., 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(2): 23–30.

Vazquez J.A., Gonzalez M.P., Murado M.A. 2005. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. Aquaculture, 245(3): 149–161.

[Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-06-28]