

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

سید حسین حسینی فر\*

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

Hoseinifar@gau.ac.ir: \*نویسنده مسئول

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۱۲

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۸/۱۵

### چکیده:

هدف از این مطالعه بررسی اثرات سطوح مختلف دو نوع پربیوتیک الیگوفروکتوز و مخمر غیرفعال بر ترکیب میکروبیوتای روده ای بچه فیل ماهی (*Huso huso*) بود. این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد که شامل تغذیه بچه فیل ماهی ها با جیره های غذایی حاوی ۱ و ۲ درصد مخمر غیرفعال و ۱ و ۲ درصد الیگوفروکتوز به همراه یک گروه شاهد (۵ تیمار و ۳ تکرار) بود. بچه فیل ماهی ها با تراکم ۳۵ قطعه در تانک های فایبرگلاس (۸۰۰ لیتری) و میانگین وزنی ( $0.56 \pm 11/40$  گرم) در حوضچه های فایبرگلاس ذخیره سازی و به مدت ۶ هفته با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف مخمر غیرفعال و الیگوفروکتوز تغذیه شدند. در انتهای دوره میکروبیوتای روده ای (تعداد باکتری های زیست‌پذیر، تعداد باکتری های اسید لاکتیک و نسبت آنها) از طریق روش مبتنی بر کشت بررسی شد. نتایج این مطالعه حاکی از آن بود که بکارگیری این دو نوع پربیوتیک هیچ‌گونه اثر معنی‌داری بر تعداد کل باکتری-های زیست‌پذیر در مقایسه با تیمار شاهد نشان نداد ( $P > 0.05$ ). بیشترین میزان افزایش تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمار ۲ درصد مخمر و ۲ درصد الیگوفروکتوز مشاهده شد که باتیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند ( $P < 0.05$ ). نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک به تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر، در تمامی تیمارهای پربیوتیکی در طی دوره پرورش افزایش معنی دار نشان داد ( $P < 0.05$ ) که از این لحاظ بیشترین میزان در تیمار ۲ درصد الیگوفروکتوز مشاهده گردید.

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

### مقدمه

جهت حائز اهمیت می‌باشد که روده ماهیان جایگاه مهمی از نقطه نظر بروز عفونت‌های میکروبی و بیماری ماهیان به‌شمار می‌آید، بویژه زمانی که امکان استفاده از واکسیناسیون وجود نداشته باشد (Birkbeck et al., 2005). همانند مهره‌داران عالی‌تر میکروبیوتای روده‌ای ماهی می‌بایستی به شرایط متفاوتی از قبیل: ترکیبات غذایی، pH، شرایط بی‌هوازی، غلظت نمک‌های صفراوی و آنزیم-های گوارشی سیستم ایمنی میزبان و تاثیرات متقابل جمعیت باکتریایی روده سازگار شوند (Hansen et

طیف گسترده‌ای از میکروب‌هایی که در محیط‌های آبی، خاکی، رسوبات و غذا یافت می‌شوند در دستگاه گوارش ماهیان نیز متمرکز شده و تشکیل میکروبیوتای روده‌ای را می‌دهند. اگرچه حضور باکتری‌های بومی در دستگاه گوارش ماهیان شناخته شده است، اما اطلاعات محدودی در زمینه جوامع میکروبی، استقرار، تنوع و مهم تر از همه امکان تغییر آن به سمت جوامع باکتریایی مفید وجود دارد (Nayaka, 2010). ثبات جمعیت باکتریایی از آن

2009). پرورش ماهیان خاویاری تا سن بازاری جهت تولید گوشت و خاویار به دلیل اهمیت آن در کاهش فشار به ذخایر طبیعی مورد توجه بوده و توسعه یافته است (Pourkazemi, 1997). فیل ماهی یکی از گونه های ماهیان خاویاری است که به دلیل رشد سریع، سازگاری با شرایط پرورشی و ارزش خاویار گزینه مناسبی برای پرورش می باشد (Mohseni et al., 2008). علی رغم گزارش های منتشر شده در زمینه اثرات پریبیوتیک ها بر میکروبیوتای روده ای و افزایش تعداد باکتری های مفید، تا امروز اطلاعات محدودی در زمینه پتانسیل ایجاد تغییر در میکروبیوتای روده ای فیل ماهی گزارش شده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف تعیین پتانسیل تغییر میکروبیوتای روده ای بچه فیل ماهی و سوق دادن آن به سمت جوامع بالقوه مفید با استفاده از دو نوع پریبیوتیک در جیره غذایی صورت پذیرفت.

### مواد و روش ها

این مطالعه در ایستگاه تحقیقات شیلاتی قره سو وابسته به موسسه تحقیقات شیلات ایران به مدت ۶ هفته انجام شد. بچه فیل ماهی ها با میانگین وزنی  $0.56 \pm 11/40$  گرم از کارگاه شهید مرجانی تامین و پس از سازگاری اولیه به تعداد ۳۵ قطعه در حوضچه های فایبرگلاس ۳۵۰ لیتری ذخیره سازی شدند. جهت تامین اکسیژن مورد نیاز بچه ماهی ها هوادهی تانک ها به طور مداوم با استفاده از سنگ های هوای متصل به پمپ هواده مرکزی صورت پذیرفت. این بررسی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد و در این مدت بچه ماهی ها با سطوح مختلف (۱ و ۲ درصد) دو نوع پریبیوتیک الیگوفروکتوز و مخمر غیرفعال (*Saccharomyces cerevisiae* مخمر

1999). تعداد نرمال جمعیت باکتری در روده ماهیان حدوداً  $10^8$  باکتری هتروتروفیک هوازی در گرم و تقریباً  $10^5$  باکتری غیرهوازی در گرم می باشد (Ringo et al., 1995).

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

ماهیان خاویاری از جمله ماهیان ارزشمند از نظر اقتصادی هستند که امروزه به دلیل صید غیرمجاز، آلوده شدن محیط زیست و از بین رفتن زیستگاه های تکثیر در معرض خطر انقراض قرار دارند (Carmona

خمیر حاصله با استفاده از یک چرخ گوشت با قطر ۳ میلی متر به رشته های بلند تبدیل شده و پس از خشک شدن در اندازه مناسب (قطر ۳ میلی متر) به صورت پلت تهیه گردید. پس از آن جیره ها در بسته بندی های مناسب تا زمان مصرف در یخچال (۴ درجه سانتی گراد) نگهداری شد. در طول دوره آزمایش بچه فیل ماهی ها تا حد سیری و روزانه ۴ بار با جیره های آزمایش تغذیه شدند (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۶).

*ellipsoideus* var. غیرفعال) تغذیه شدند. مواد استفاده شده جهت تهیه جیره پایه فرموله شده شامل آرد ماهی، آرد گندم، آرد سویا، روغن ماهی، روغن سویا، مکمل های معدنی - ویتامینی و دیگر افزودنی ها بود (جدول ۱). برای تهیه جیره ها، ابتدا مواد اولیه خشک به همراه سطح مختلف پرپیوتیک ها توزین شده و به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط گردیدند. پس از مخلوط شدن مواد اولیه مایع اضافه شده و مخلوط کردن به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. سپس

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

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

\* آمت بایندر (یزد، ایران)

\*\* بوتیلید هیدروکسی تولوئن (BHT)

انتهای دوره به طور تصادفی نمونه برداری از ماهیان (بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی) انجام شد. در ابتدای دوره تعداد ۱۵ قطعه بچه ماهی و در انتهای دوره تعداد ۳ ماهی از هر تکرار بطور تصادفی انتخاب شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه بچه فیل ماهی ها با وارد نمودن ضربه فیزیکی به ناحیه سر کشته شده

به منظور بررسی تغییرات ایجاد شده در ترکیب میکروبیوتای بومی در روده بچه فیل ماهی، تعداد باکتری های اسید لاکتیک، تعداد کل باکتری های زیست پذیر و همچنین نسبت باکتری های اسید لاکتیک به کل باکتری ها در اثر تغذیه با سطوح مختلف دو نوع پرپیوتیک، در ابتدای دوره و همچنین

وزن روده براساس مشخصات فنوتیپی شناسایی و شمارش شدند (Peter and Sneath, 1986). با توجه به اهمیت پیراسنجه های کیفی آب در پرورش ماهی، علاوه بر دقت کافی در خصوص نظافت محل نگهداری بچه ماهی ها و کنترل کمیت آب ورودی، فاکتورهای کیفی آب شامل دمای آب (با استفاده از دستگاه WTW ساخت کشور آلمان)، اکسیژن محلول (با استفاده از Oximeter، (با استفاده از pH (با استفاده از oxi320/set wtw)، هدایت الکتریکی و شوری (با استفاده از دستگاه Cond 330i/set wtw) به صورت روزانه اندازه گیری و ثبت شدند. برای مقایسه بین تیمارها و نیز وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح احتمال ( $P < 0.05$ ) از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون چند دامنه ای دانکن (Duncan's multiple-range test) استفاده گردید (Zar, 1994). داده های درصدی پیش از انجام آنالیزها به صورت آرک سینوس (Arc sin) در آورده شدند کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۳) و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel, 2007 در محیط ویندوز انجام شد.

### نتایج

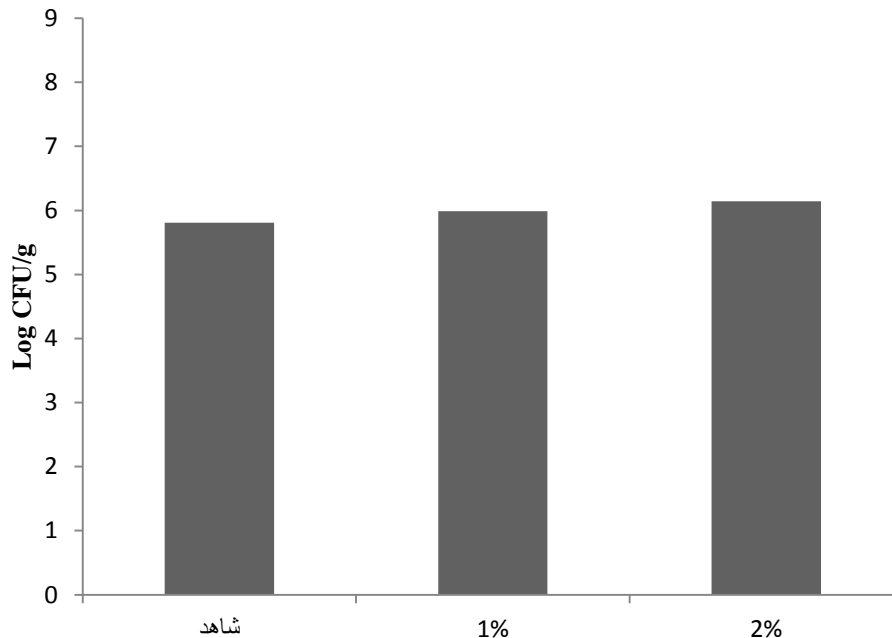
نتایج بررسی میکروبیوتای روده ای: در ابتدای دوره تعداد کل باکتری های زیست پذیر میکروبیوتای روده و تعداد باکتری های اسیدلاکتیک به ترتیب  $0.73 \pm$  و  $4/92$  و  $0.19 \pm$  و  $3/68$  واحد کلنی بر گرم وزن روده بود. مقادیر تعداد کل باکتری های زیست پذیر در فیل ماهی های تغذیه شده با سطوح مختلف مخمر غیرفعال و الیگوفروکتوز در شکل ۱ نشان داده شده

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

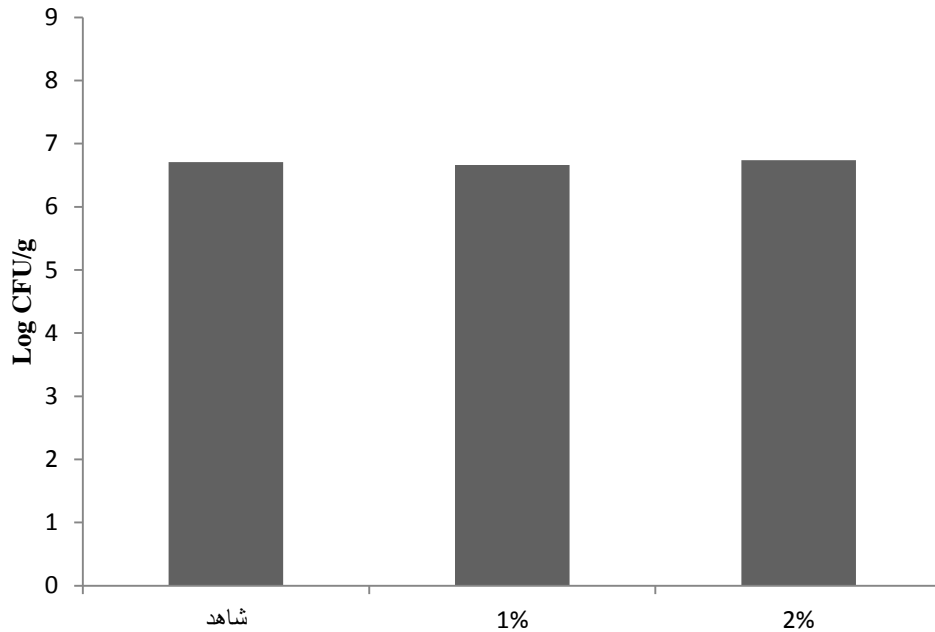
پس از ضد عفونی کردن و شستشو با آب مقطر، نمونه ها با تیغ اسکالپل استریل، کالبدگشایی شده و روده آنها خارج شد. نمونه های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و به منظور هموژن نمودن به هاون های چینی استریل منتقل گردید. پس از هموژن نمودن نمونه های روده با استفاده از محلول نمکی استریل (۰/۸۷ NaCl w/v درصد)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

داری بین این دو تیمار و همچنین تیمار ۱ درصد و شاهد مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ )، در حالیکه اختلاف معنی داری بین تیمار تغذیه شده با ۲٪ مخمر غیرفعال و شاهد مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). بررسی نسبت (٪) باکتری‌های اسیدلاکتیک به تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر، نشان داد که در تمامی تیمارهای تغذیه شده با پره‌بیوتیک این نسبت افزایش یافت و از این لحاظ بین تمامی تیمارها پره-بیوتیکی و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) (جدول ۲). بیشترین میزان افزایش نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک به تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر در تیمار تغذیه شده با ۲ درصد الیگو فروکتوز مشاهده گردید.

است. تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر میکروبیوتای روده‌ای در تمامی تیمارهای تغذیه شده با پره‌بیوتیک در طی دوره پرورش افزایش داشت اما تفاوت معنی داری بین این تیمارها و نیز بین این تیمارها و گروه شاهد مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ) (شکل ۱). بررسی تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی تغذیه شده با جیره حاوی الیگوفروکتوز در انتهای دوره نشان داد افزودن ۲ درصد الیگوفروکتوز به جیره به طور معنی داری سبب افزایش آنها در مقایسه با تیمار ۱٪ و شاهد شد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۲)، همچنین در ماهی‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱ و ۲ درصد مخمر غیرفعال افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک مشاهده شد اما اختلاف معنی-



شکل ۱- اثرات مقادیر مختلف پره‌بیوتیک‌ها الیگوفروکتوز بر تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر (برحسب لگاریتم واحد کلنی در گرم وزن روده) در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی

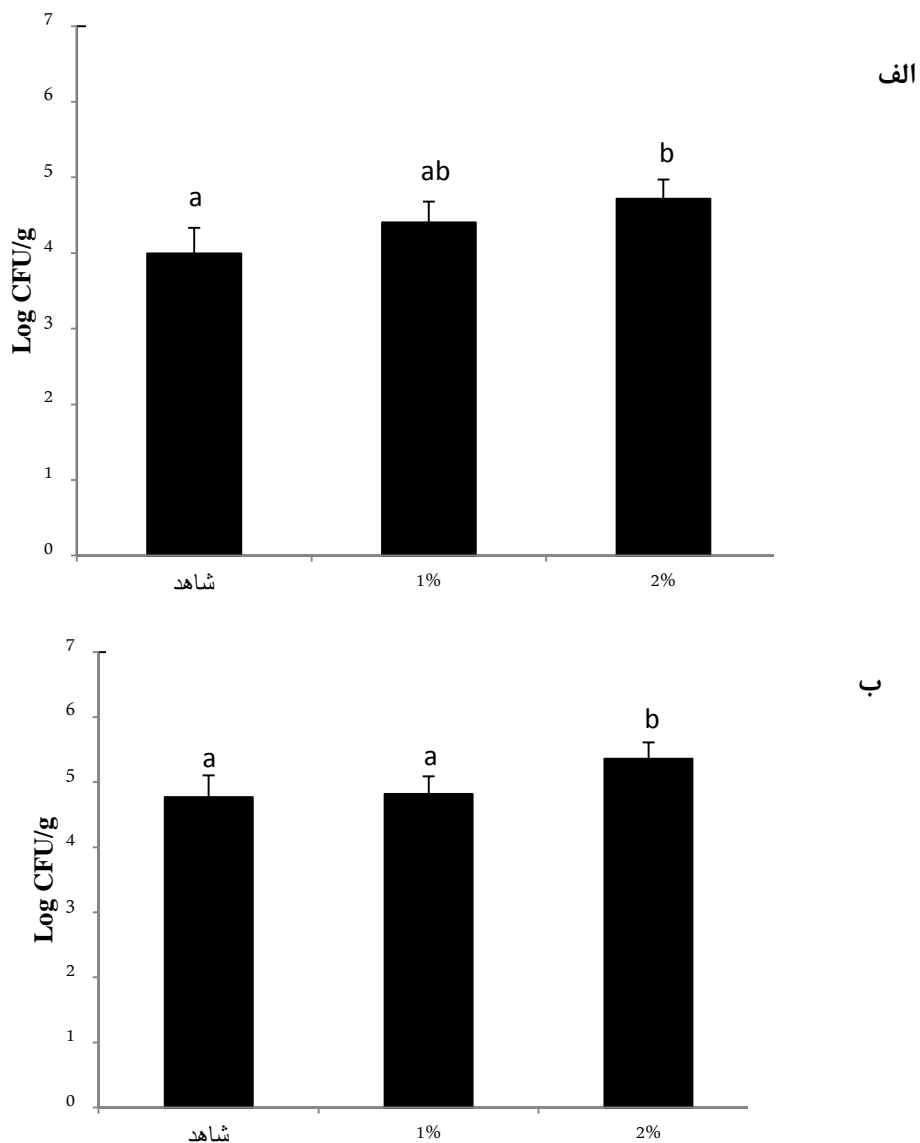


شکل ۲- اثرات مقادیر مختلف پریوتیک ها مخمر غیرفعال بر تعداد کل باکتری‌های زیست پذیر (برحسب لگاریتم واحد کلنی در گرم وزن روده) در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی

±۰/۵۷ دمای آب ۵/۷۳ ±۰/۴ میلی گرم در لیتر؛  
 ۲۴/۳۸ درجه سانتی گراد؛ pH آب ۷/۹۷ ±۰/۰۶؛  
 قابلیت هدایت الکتریکی آب ۴/۸۹ ±۰/۰۱ میلی  
 موس بر سانتی متر؛ شوری آب ۲/۶ گرم بر لیتر در  
 نوسان بود.

#### فاکتورهای کیفی آب

با توجه به وجود یکسان شرایط در تمامی ونیروها و جریان دائم آب ورودی تفاوت چندانی بین واحدهای آزمایشی از نظر فاکتورهای کیفی آب نبود. مقادیر اکسیژن محلول به طور متوسط در طول دوره پرورش



شکل ۳- اثرات مقادیر مختلف پربیوتیک های الیگوفروکتوز (الف) و مخمر غیرفعال (ب) بر تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک (برحسب لگاریتم واحد کلنی در گرم وزن روده) در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی. ستون‌ها (SD) ± میانگین) با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲. نسبت (%) باکتری‌های اسیدلاکتیک به تعداد کل باکتری‌های زیست‌پذیر میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی در اثر تغذیه با سطوح مختلف الیگوفروکتوز و مخمر غیرفعال

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

ردیف‌ها (SD) ± میانگین) با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند ( $P < 0.05$ ).

## بحث

زیست‌پذیر در میکروبیوتای روده ای بچه فیل ماهی ندارد. این در حالی است که تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در انتهای دوره در میکروبیوتای روده‌ای بچه فیل ماهی‌های تغذیه شده با مخمر غیرفعال و الیگوفروکتوز ۲ درصد به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. نتایج مشابهی در مطالعه سطوح مختلف اینولین بر میکروفلور روده بچه فیل ماهی بدست آمده است (اکرمی، ۱۳۸۷). البته در مطالعه مذکور بیشترین سطح باکتری‌های اسید لاکتیک در میکروبیوتای روده‌ای مربوط به تیمار اینولین ۱ درصد بود و با افزایش سطح اینولین در جیره، جمعیت لاکتوباسیلوس‌های روده دچار کاهش شد. همراستا با یافته‌های مطالعه حاضر بکارگیری سطوح مختلف پربیوتیک‌ها مانان الیگوساکارید و فروکتو الیگوساکارید به طور معنی‌داری سبب افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در میکروبیوتای روده‌ای فیل ماهی و ازون برون گردید ( Razeghi Mansour et al., 2011; Akrami et al., 2013). درحالی که Li و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که سطوح مختلف پربیوتیک الیگوفروکتوز که اثر مشخصی بر میکروبیوتای روده میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) ندارد (Li et al., 2007). نتایج مطالعه حاضر نیز منطبق بر نتایج مطالعات فوق‌الذکر می‌باشد و باکتری‌های اسید لاکتیک میکروفلور دستگاه گوارش فیل‌ماهی توانستند (در تیمار پربیوتیک الیگوفروکتوز ۲درصد و ۱درصد) به‌خوبی الیگوفروکتوز را تخمیر نموده و افزایش تعداد و غالبیت پیدا کنند. اختلاف نتایج مطالعه حاضر با برخی از مطالعات پیشین احتمالاً ناشی از نوع گونه، میزان پربیوتیک مورد استفاده و نحوه بکارگیری است. همچنین این بررسی افزایش معنی دار تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در

پربیوتیک‌ها از طریق بهبود فلور باکتریایی روده، آثار زیانبار عوامل عفونت‌زا را کاهش و میزان بازماندگی در مواجهه با عوامل بیماری‌زا را افزایش می‌دهند (Schley and field, 2002). فلور باکتریایی روده ماهی شامل مجموعه پیچیده‌ای از انواع باکتری‌های هوازی، بی‌هوازی اختیاری و بی‌هوازی اجباری می‌باشد. باکترهای موجود در میکروبیوتای روده ای به شکل بومی (indigenous) یا موقت و گذرا (transit) هستند (Olsen et al., 2001). باکتری‌های اسید لاکتیک از جمله باکتری‌های مفید روده ای هستند که امروزه اهمیت بسیاری زیادی در به کارگیری به عنوان پروبیوتیک یا پربیوتیک دارند (Ringo & Gatesoupe, 1998). تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه نظیر: استات، پروپیونات، بوتیرات و اسیدلاکتیک ناشی از تخمیر پربیوتیک، منجر به کاهش pH روده می‌شود که شرایط مناسب برای رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک را فراهم می‌کند (Schley and) Field, 2002). با وجود این که حضور باکتری‌های اسید لاکتیک در روده بسیاری از ماهیان از جمله: ماهی کاد اقیانوس اطلس، ماهی آزاد اقیانوس اطلس، قزل‌آلای رنگین کمان، فیل ماهی، قره برون و چار قطبی ثابت شده است اما این باکتری‌ها جزء فلور غالب روده نیستند (Sugita et al., 1985; Ringo & Gatesoupe, 1998; Hagi et al., 2004; Askarian & Kousha, 2007). افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در روده از طریق به‌کارگیری موادی که خاصیت پره‌بیوتیکی دارند اثرات سودمندی را به دنبال خواهد داشت (پورامینی و حسینی فر، ۱۳۸۶). نتایج این مطالعه نشان داد بکارگیری الیگوفروکتوز و مخمر غیرفعال اثر معنی‌داری بر تعداد کل باکتری‌های



جیره غذایی فیل ماهی جهت افزایش سطوح باکتری‌های مفید مدنظر قرار گیرد.

### منابع

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

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

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

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

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

میکروبیوتای روده ای را به موازات افزایش سطح بکارگیری مخمر در جیره نشان می‌دهد که نتایج مشابهی در اثر استفاده از مخمر نانویی بر میکروبیوتای روده‌ای نیل تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) گزارش شده است (Abdel-Tawwab et al., 2008). بطور کلی پربیوتیک الیگوفروکتوز کارایی بیشتری در مقایسه با مخمر غیرفعال در زمینه افزایش تعداد و نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک نشان داد. افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک پس از بکارگیری مخمر ساکارومایسیس سروویزه غیرفعال و الیگوفروکتوز احتمالاً در نتیجه تامین مواد غذایی مورد نیاز این باکتری‌های مفید روده ای می‌باشد. باکتری‌های اسیدلاکتیک قادر به تولید آنزیم‌های تجزیه کننده خارج سلولی نیستند بنابراین آن‌ها برای رشد وابسته به میکروارگانیسم دیگری هستند تا بر مولکول‌های پیچیده عمل کرده و مواد غذایی خاصی را برای آنها فراهم کنند (Ringo & Gatesoupe, 1998). در صورتی که مواد غذایی مورد نیاز برای باکتری‌های اسیدلاکتیک فراهم شود، آنها به سرعت رشد یافته و تعداد آنها افزایش می‌یابد که چنین روندی در مطالعه حاضر نیز مشاهده شده است.

در مجموع نتایج این مطالعه حاکی از آن است الیگوفروکتوز و مخمر غیرفعال کارایی بالایی در تغییر ترکیب میکروبیوتای روده ای و افزایش تعداد و نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک دارد که دارای اثرات پربیوتیکی هستند. براساس نتایج بدست آمده پربیوتیک الیگوفروکتوز کارایی بیشتری جهت افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک دارد. از این رو استفاده از سطح ۲ درصد از هریک از این پره-بیوتیک‌ها می‌تواند به عنوان مکمل مناسبی برای

- Cai, Y., Suyanandana, P., Saman, P., Benno, Y. 1999. Classification and characterization of lactic acid bacteria isolated from the intestines of *common carp* and freshwater prawns. *The Journal of General and Applied Microbiology* 45(4), 177-184.
- Carmona, R., Domezain, A., Garcia-Gallego, M., Antonio Hernando, J., Rodriguez, F., Ruiz-Rejon, M. 2009. Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons. *Springer publication*, 467 p.
- Collins, M. D., Gibson, G. R. 1999. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *American Society for Clinical Nutrition* 69(5), 1052-1057.
- Hagi, T., Tanaka, D., Iwamura, Y., Hoshino, T. 2004. Diversity and seasonal change in lactic acid bacteria in the intestinal tract of cultured freshwater fish. *Aquaculture* 234, 335-346.
- Hansen, G. H., Olafsen, J. A. 1999. Bacterial Interactions in early life stages of marine Cold water Fish. *Microbial Ecology* 38(1), 1-26.
- Hoseinifar, S. H., Zare, P., Merrifield, D. L. 2010. The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian white shrimp larvae and post-larvae (*Fenneropenaeus indicus*). *Aquaculture Research* 41(9), 348-352.
- (*Acipenser stellatus*) juvenile. *Fish & Shellfish Immunology* 35, 1235-1239.
- Askarian, F., Kousha, A., Shenavar, A., Ringe, E., Bahmani, M., Khorshidi, K., Matinfar, A. 2007. Isolation of lactic acid bacteria as probiotic from gastrointestinal tracts of Beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Proceeding of International Training Course on fish Nutrition and disease*, 5 September, Ghaemshahr, Iran, 27 P.
- Birkbeck, T. H., Ringo, E. 2005. Pathogenesis and gastrointestinal tract of growing fish. In: *Microbial Ecology in Growing Animals* (eds. Holzappel, W.; Naughton, P). pp. 208-234. *Elsevier, Edinburgh, UK*.
- Burr, G., Gatlin III, D., Ricke, S. 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society* 36, 425-436.
- Chiu, C.H., Cheng, C.H., Gua, W.R., Guu, Y.K., Cheng, W. 2010. Dietary administration of the probiotic, *Saccharomyces cerevisiae* P13, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology* 29 (6), 1053-1059.

- Linnaeus, C. 1758). *Aquaculture* 14(3), 219–229.
- Mahious, A., Ollevier, F. 2005. *Probiotics and Prebiotics in Aquaculture: Review. Workshop on Techniques for Enrichment of live food for use in larviculture, Urmia, Iran.* pp.17-26.
- Marteau, P., Flourie, B. 2001. Tolerance to low-digestible carbohydrates: symptomatology and methods. *British Journal of Nutrition* 85, S17–S21.
- Merrifield, D. L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T.M., Bøggwald, J. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture* 302, 1-18.
- Merrifield, M., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S., Baker, R., Bøggwald, J., Castex, M., Ringø, E. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture* 302, 1–18.
- Mohseni, M., Ozorio, R.O.A., Pourkazemi, M., Bai, S. C. 2008. Effects of dietary L-carnitine supplements on growth and body in beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Journal of Applied Ichthyology* 24, 646-649.
- Nayak, S. k. 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research* 41(11), 1553-1573.
- Olsen, R. E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M., Ringø, E. 2001. Damaging effect of dietary
- Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Mojazi Amiri, B., Rostami, H.K., Merrifield, D. L. 2011. The effects of oligofructose on growth performance, survival and autochthonous intestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture Nutrition* 17, 498-504.
- Keyvanshokoh, S., Ghasemi, A., Shahriari Moghadam, M., Nazari, R.M., Rahimpour, M. 2007. Genetic analysis of *Rutilus rutilus caspicus* (Jakowlew 1870) populations in Iran by microsatellite markers, *Aquaculture Research* 38, 953-956.
- Kiabi, B. H., Abdoli, A., Naderi, M. 1999. Status of the fish fauna in the South Caspian basin of Iran. *Journal of Zoology in the Middle East* 18, 57-65.
- Li, P., Burr, G., Gatlin, D., Hume, M.E., Patnaik, S., Castile, F.L., Lawrence, A. L. 2007. Dietary supplementations of short-chain fructooligosaccharides influences gastrointestinal microbiota composition and immunity characteristics of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*, cultured in a recirculating system. *American Society for Nutrition* 137(12), 2763–2768.
- Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R., Ollevier, F. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, (*Psetta maxima*

- Ringo, E., Olsen, R.E., Gifstad Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G. I. 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition* 16, 117e36.
- Ringo, E., Dimitroglou, A., Hoseinifar, S.H., Davies, S. J. 2014. Prebiotics in finfish: an update. In: *Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics* (eds. by Ringø, E. & Merrifield, D.), pp. 416. Wiley-Blackwell. New York.
- Schley, P., Field, C. 2002. The immune enhancing effects of dietary fibers and prebiotics. *British Journal of Nutrition* 87(2), 221-230.
- Sealey, W. M., Barrows, F.T., Johansen, K.A., Overturf, K., LaPatra, S. E., Hardy, R.W. 2007. Evaluation of the ability of partially autolyzed yeast and Grobiotic-a to improve disease resistance in rainbow trout. *North American Journal of Aquaculture* 69(4), 400– 406.
- Sudagar, M., Hoseinifar, S. H., 2005. The use of Optimun in diet of grand sturgeon *Huso huso* fry and its effects on growth factors and survival rate. *Proceedings of the 5<sup>th</sup> international symposium on sturgeons*, Ramsar, Iran, 9-13 May, Page 93.
- Sugita, H., Hirose, Y., Matsuo, N., Deguchi, Y. 1998. Production of the antibacterial substance by *Bacillus* sp. strain NM12, an intestinal bacterium of Japanese inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquaculture Research* 32, 931-934.
- Peter, H., Sneath, A. 1986. *Bergeys manual of systematic Bacteriology*. Vol. 2, pp. 1104-1154.
- Pourkazemi, M. 1997. The survey status of sturgeon fishes and their conservation in the Caspian Sea. *Iranian Journal Fisheries Science* 3, 13-22.
- Razeghi Mansour, M., Akrami, R., Ghobadi, S.H., Amani Denji, K., Ezatrahimi, N., Gharaei, A. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Fish Physiology and Biochemistry* 38, 829-835.
- Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P., 1998. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) survival and growth. *Aquaculture* 167, 301– 313.
- Ringo, E., Strom, E., Tabachek, J. A. 1995. Intestinal microflora of salmonids: a review. *Aquaculture Research* 26, 773-789.
- Ringø, E., Sperstad, S., Myklebust, R., Mayhew, T. M., Olsen, E. 2006. The effect of dietary inulin on bacteria associated with hindgut of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquaculture Research* 37(9), 891–897.

- Williot, P., Sabeau, L., Gessner, J., Arlati, G., Bronzi, P., Gulyas, T., Berni, P. 2001. Sturgeon farming in Western Europe: recent developments and perspectives. *Aquatic Living Resources* 14, 367–374.
- Yousefi, M., Abtahi, B., Kenari, A. 2012. Hematological, serum biochemical parameters, and physiological responses to acute stress of Beluga sturgeon (*Huso huso*, Linnaeus 1785) juveniles fed dietary nucleotide. *Comparative Clinical Pathology* 21, 1043-1048.
- Zar, J. H., 1994. Biostatistical Analysis. *Prentice-Hall*, New Jersey, 662 p.
- coastal fish. *Aquaculture* 165, 269–280.
- Verscher, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Versteraeete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology Molecular Biology* 64, 655-671.
- Welker, T., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R., Klesius, P. H. 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. *Journal of the World Aquaculture Society* 38(1), 24-35.

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

Assistant Professor of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

\*Corresponding author: Hoseinifar@gau.ac.ir

Received:06/11/2014

Accepted:1/02/2015

**Abstract**

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

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