Nova Biologica Reperta 6(2): 169-175 (2019)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press

یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۶، شماره ۲، صفحات ۱۶۹ الی ۱۷۵ (۱۳۹۸)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

تاثیر ترکیبی بیوپلاستیک و باکتری‌های تجزیه کننده آن از سرده *Acidovorax* بر فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی‌هوازی انتهای روده بچه ماهیان تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) به روش CLPP

ابراهیم حسین نجدگرامی[۱] و پیتر بوسیر[۲]
[۱]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛ [۲]گروه تولیدات حیوانی، دانشکده مهندسی علوم زیستی، دانشگاه گنت، بلژیک
مسئول مکاتبات: ابراهیم حسین نجدگرامی، e.gerami@urmia.ac.ir

چکیده. روش Community Level Physiological Profiles (CLPP) از جمله روش‌های نوین در ارزیابی تنوع و فعالیت متابولیکی باکتری‌ها در اکوسیستم‌ها است. بر اساس نتایج تحقیقات انجام شده، پلی بتا هیدروکسی بوتیرات (PHB) به عنوان یک عامل بیوکنترل، باعث افزایش تنوع باکتریایی در سیستم گوارش برخی از گونه‌های آبزی شده است. در این تحقیق تاثیر استفاده از PHB و ترکیب دو گونه از باکتری تجزیه کننده آن از سرده *Acidovorax* در ۴ تیمار تحقیقاتی (کنترل، ترکیب دو باکتری تجزیه کننده، ٪۲ PHB و ترکیب دو باکتری + ٪۲ PHB) بر فعالیت متابولیکی باکتری‌های قابل کشت بی هوازی ، در بچه ماهیان تاسماهی سیبری با روش CLPP بررسی شد. نتایج نشان داد که پتانسیل فعالیت باکتری‌های بی هوازی در تیمار ٪۲ PHB نسبت به سایر تیمارها متفاوت است و استفاده از این بیوپلاستیک باعث افزایش فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی هوازی در انتهای روده می شود. همچنین نتایج نشان داد که باکتری‌های بی‌هوازی انتهای روده در بچه ماهیان تغذیه شده با این تیمار، دارای بالاترین فعالیت متابولیکی بر روی منابع کربنی اسید آمینه، کربوهیدرات و کربوکسیلیک اسیدها در میکروپلت‌ها بودند. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از ٪۲ PHB باعث افزایش فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی‌هوازی انتهای روده می شود و اضافه کردن باکتری‌های تجزیه کننده آن بنا به دلایل نامعلوم تاثیری در افزایش این فعالیت ندارد.

واژه‌های کلیدی. اسیدهای چرب کوتاه زنجیره، بتابوتیریک اسید، بیولوگ اکوپلت، فلور میکروبی

The effects of the combination of bioplastic and its degrading bacteria (Genus *Acidovorax*) on the metabolic activity of anaerobic bacteria in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fingerlings hindgut by using CLPP

Ebrahim H. Najdegerami[1] & Peter Bossier[2]
[1]Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran; [2]Department of Animal Production, Faculty of Bioscience, Gent University, Belgium
Correspondent author: Ebrahim Hossein Najdegerami, e.gerami@urmia.ac.ir

Abstract. Community Level Physiological Profiles (CLPP) is novel method to evaluate microbial activity and diversity in ecosystems. According to the previous findings, poly-β-hydroxybutyrate (PHB) as a bio-control product, increases bacterial diversity in some aquatic animals. In this study, the effects of four experimental diets (control, combination of two PHB degrading bacteria, 2% PHB, bacteria+ 2% PHB) on the anaerobic activity of cultivable bacteria in Siberian sturgeon fingerlings hindgut was investigated. Community level physiological profile (CLPP) was used to analyze anaerobic metabolism by using Biolog™ Ecoplate microplates. The results indicated that anaerobic metabolic potential of the bacterial community was different in the 2% PHB-treated fishes as compared with other groups and PHB improved anaerobic metabolism of bacteria in fingerlings. Also anaerobic metabolism of bacteria was calculated on the different carbon sources (amino acids, carboxylic acids, carbohydrates and polymers) in Ecoplate microplates and the results showed that fish treated with PHB had the highest metabolic activity in mentioned carbon

Received 28.04.2016/ Revised 10.01.2017/ Accepted 17.02.2017/ Published 01.08.2019
دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۰۸/ اصلاح: ۱۳۹۶/۱۰/۲۰/ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۸/ انتشار: ۱۳۹۸/۰۵/۱۰

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.1.8]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.169]

sources. The results of this research revealed that replacing of the diets with 2% PHB increases anaerobic metabolism of culturable bacteria in Siberian sturgeon hindgut while adding PHB degrading bacteria did not change this parameter in fingerlings.

Keywords: Short chain fatty acids, beta- hydroxybutyric acid, Biolog ecoplate, microbial community

مقدمه

در طول دهه‌های گذشته استفاده از آنتی بیوتیک‌ها برای درمان بیماری‌های باکتریایی در آبزی پروری مرسوم بوده است (Najdegerami *et al*., 2012). ممنوعیت استفاده از این مواد در جیره‌های غذایی جانداران در اتحادیه اروپا و سایر کشورها بعد از سال ۲۰۰۶، دانشمندان را به یافتن روش‌های بیو کنترل مانند پری-بیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها و اسیدهای چرب کوتاه زنجیره برای آنتی بیوتیک‌ها ترغیب کرده است (De Schreyver *et al*., 2009). بر اساس تعریف، پری بیوتیک یک ماده غیر قابل هضم در روده است که توسط میکروارگانیسم‌های خاصی تجزیه می شود و باعث بهبود وضعیت روده و در نهایت میزبان می شود (Gibson & Roberfroid 1995; Manning & Gibson 2004). تاثیرات مثبت استفاده از این مواد بر تحریک سیستم ایمنی علیه پاتوژن‌ها، تغییر فلور میکروبی روده و تولید متابولیت‌های مفید در انسان (Manning & Gibson, 2004)، حیوانات اهلی (Smiricky-Tjardes *et al*., 2003) و ماهیان (Yousefian & Amiri, 2009; Najdgerami *et al*., 2011) در مطالعات مختلف گزارش شده است. بخش عمده ای از این تاثیرات از مسیر تخمیر پری‌بیوتیک‌ها به وسیله باکتری‌های روده و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره اتفاق می افتد که با اسیدی کردن محیط روده، باعث تغییراتی در فلور میکروبی (افزایش فعالیت متابولیکی) روده شده و در نتیجه فلور باکتریهای پاتوژن روده مانند *Salmonella* spp و *Vibrio* spp کاهش می‌یابد (Defroidt *et al*. 2007).

روشهای مختلفی برای بررسی این تنوع و فعالیت باکتریایی در روده جاندران وجود دارد که می توان به روش‌های کشت آزمایشگاهی، روش‌های مولکولی از طریق تکنیک PCR-DGGE و در نهایت روش CLPP اشاره کرد که در روش اخیر از میکروپلت‌های Biolog™ Ecoplate برای سنجش فعالیت متابولیکی باکتری‌های قابل کشت استفاده می شود. کاربرد این میکروپلت‌ها برای بررسی تنوع فلور باکتریایی خاک (Weber & Legge, 2009) و فلور میکروبی روده آبزیان (Uchii *et al*., 2006) در تحقیقات مختلف گزارش شده است.

پلی بتاهیدروکسی بوتیرات (PHB) یک پلی مر طبیعی از خانواده پلی بتا هیدروکسی آلکانات‌ها است که برخی باکتری‌ها آن را در شرایط خاص (غلظت بالای کربن و نیتروژن کم) به عنوان ذخیره کربنی تولید می‌کنند (Kato *et al*., 1992; Patnik, 2005). 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 می شود که دارای کارکردی مشابه اسیدهای چرب کوتاه زنجیره است. تاثیرات مثبت این ماده در افزایش تنوع و فعالیت متابولیکی باکتری‌های هوازی و بی هوازی بچه ماهیان تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii* Najdegerami *et al*., 2011; Najdegerami, 2015)، افزایش تنوع باکتریایی در بچه ماهیان سی باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax* De Schryver *et al*., 2009) در مطالعات مختلف گزارش شده است.

این تحقیق با هدف بررسی تاثیرات استفاده توام PHB و همچنین باکتری‌های تجزیه کننده آن (*Acidovorax* sp.) بر فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی‌هوازی قابل کشت انتهای روده با استفاده از روش CLPP در بچه ماهیان تاسماهی سیبری طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۵۹۲ عدد بچه ماهی تاسماهی سیبری با وزن اولیه ۱/۱±۹ گرم، به مدت ۶۰ روز در ۱۶ حوضچه فایبر گلاس ۳۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۱۵۰ لیتر و با تراکم ۳۷ عدد بچه ماهی در هر حوضچه، برای اندازه گیری فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی-هوازی انتهای روده با استفاده از روش CLLP، با جیره‌های تحقیقاتی مورد تغذیه قرار گرفتند. غذای تجاری مورد استفاده در این آزمایش از کارخانه Joosen-luyckx, Aqua Bio, Belgium تهیه شد. آب حوضچه‌های فایبرگلاس از آب لوله کشی شهری که پس از هوادهی و خروج گاز دی اکسیدکربن و جذب اکسیژن وارد سیستم می شد تامین گردید. درجه حرارت آب، اکسیژن محلول و pH آب قبل از ورود به حوضچه‌های

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.1.8]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.169]

فایبرگلاس به ترتیب ۱۸درجه سانتیگراد، ۷ میلی گرم 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: ۱- غذای کنسانتره (کنترل)، ۲- غذای کنسانتره حاوی دو گونه باکتری (*Acidovorax* spp) تجزیه کننده PHB هر کدام با تراکم 10^{-7} CFU/g feed، ۳- غذای کنسانتره حاوی ٪۲ PHB، ۴- غذای کنسانتره حاوی ترکیب ٪۲ PHB و باکتری‌ها به شرح بالا.

برای تهیه تیمار باکتری در این طرح، از دو باکتری با نام‌هایS4 وS7، که به وسیله Liu و همکاران (2010) از محتوی انتهای روده بچه ماهیان تاسماهی سیبری که از جیره حاوی ۵ درصد PHB به مدت ۴۵ روز تغذیه کرده بودند استفاده شد. نتایج توالی یابی بر روی این دو باکتری و تایید آن در سایت NCBI نشان داده بود کهS4 وS7 به ترتیب با احتمال ۹۹ و ۹۶/۹ درصد متعلق به *Acidovorax* spp. هستند. باکتری‌های جدا شده 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 بر روی غذا (تیمارهای دوم و چهارم) اسپری شد. برای اطمینان از وجود تراکم مورد نظر باکتری‌ها در غذا، عمل اضافه کردن آنها به صورت روزانه برای تیمارهای دوم و چهارم انجام می شد. برای اطمینان بیشتر، در هر هفته ۳-۲ بار در انتهای روز از غذای بچه ماهیان نمونه برداری، و تراکم باکتری‌ها آزمایش گردید.

برای اندازه گیری میزان CLPP برای باکتری‌های بی‌هوازی انتهای روده، از میکروپلت‌های Biolog ™ Ecoplate (Biolog Inc. Hayward, CA, USA) استفاده شد که شامل ۳۱ منبع کربنی بعلاوه یک کنترل منفی (آب) در ۳ تکرار بود (در مجموع ۹۶ خانه) (Insam, 1997). برای تهیه سوسپانسیون باکتری‌های انتهای روده، ۳ ماهی از هر تکرار با استفاده از محلول ۲ میلی لیتر ۲- Phenoxyethanol در یک لیتر آب بیهوش شدند و پس از باز کردن قسمت شکمی در شرایط استریل، محتویات انتهای روده آنها برداشت شده و پس از مخلوط کردن، ۱ گرم (وزن تر) آن در ۱۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی (۰/۸۵ درصد نمک) حل و با یک دستگاه هموژنایزر (Stomacher 400) به خوبی به هم زده شد و سپس برای جدا کردن ذرات غیر قابل حل از سوسپانسیون بدست آمده، از فیلتر ۵۰ میکرون استفاده شد و محلول بدست آمده مجدداً ۱۰ بار رقیق گردید و حجم محلول به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. به هر کدام از خانه‌های میکروپلت‌ها، ۱۳۰ میکرولیتر از این محلول ریخته و میکروپلیت‌ها در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد در شرایط بی هوازی به مدت ۹۶ ساعت نگهداری و میزان جذب نور هر کدام از خانه‌ها، با استفاده از دستگاه پلت ریدر (TECAN) در ساعت‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ در طول موج ۵۹۰ خوانده شد و میانگین تغییر رنگ در خانه‌های میکروپلت AWCD با توجه به فرمول زیر محاسبه گردید.

$$AWCD = \sum(C-R)/n$$

در این فرمول C میزان جذب نور در داخل هر کدام از خانه‌های میکروپلت پس از انکوباسیون، R میزان جذب نور در خانه حاوی آب و n تعداد سوبسترا در میکروپلت‌ها است که در میکروپلت-های Ecoplate این تعداد ۳۱ است. برای نرمال کردن داده‌های حاصل از میکروپلت‌های BiologTM Ecoplate، داده‌ها بر AWCD میکروپلت‌ها تقسیم شدند و سپس برای سایر محاسبات از این داده‌ها استفاده شد (Garland & Mills 1991). همچنین برای محاسبه میزان فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی‌هوازی در سوبستراهای موجود در این میکروپلت‌ها، میزان جذب نور آنها در ساعت‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ محاسبه و نمودارهای مربوطه رسم گردید.

محاسبات آماری

با توجه به ماهیت کار در این تحقیق که بیشتر محاسبات مربوط به AWCD و میزان فعالیت باکتری‌های بی‌هوازی در انواع سوبسترا-های موجود در میکروپلت‌ها بود، تمامی داده‌ها و نمودارهای مندرج در این مقاله، در نرم افزار Excel ۲۰۰۷ ویرایش و رسم شد.

نتایج

فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی هوازی انتهای روده بچه ماهیان تاسماهی سیبری با استفاده از AWCD در خانه های میکروپلت‌ها سنجش شد که نتایج آن در شکل ۱ آمده است. با توجه به این نتایج بچه ماهیانی که از تیمار ۲ درصد PHB استفاده کرده بودند دارای بالاترین میزان فعالیت متابولیکی در باکتری‌های بی‌هوازی قابل کشت بودند که نسبت به سایر تیمارها، افزایشی در حدود ۷۵ درصد را نشان دادند. فعالیت این دسته از باکتری‌ها در سایر تیمارها با

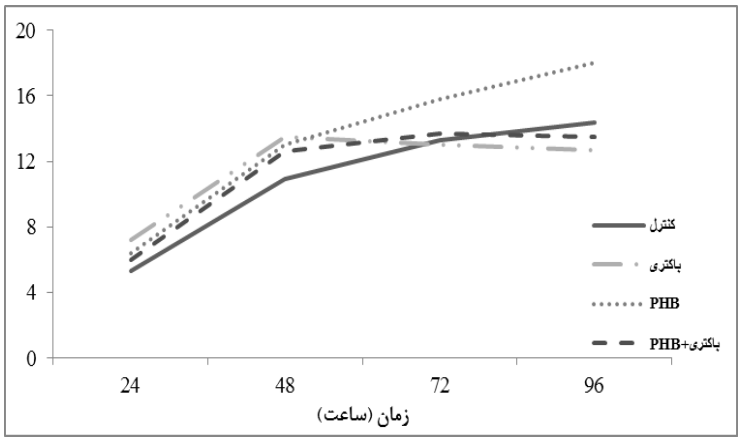
[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.1.8]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.169]

توجه به شاخص AWCD تا حدودی یکسان بوده و اختلاف چندانی در میزان فعالیت باکتری‌ها در این تیمارها مشاهده نشد.

میکروپلت‌های اکوپلت دارای ۳۱ منبع کربنی متعلق به ۶ گروه از ترکیبات آلی هستند. میزان فعالیت باکتری‌های بی‌هوازی در هرگروه از منابع کربنی محاسبه شد و نتایج آن در شکل ۲ آمده است. چنانچه در نمودار مشاهده می شود بالاترین فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی هوازی در استفاده از منابع کربنی پلیمری، در تیمارهای باکتری و PHB و پایین ترین آن در تیمار چهارم (باکتری + PHB) مشاهده شد. اختلافات در استفاده از منابع کربنی آمینو اسیدی در میکروپلت‌ها به وسیله باکتری‌های بی‌هوازی شدیدتر بود و بالاترین آن در تیمارهای PHB و باکتری + PHB مشاهده شد که نسبت به تیمارهای کنترل و باکتری، ۷۵ درصد افزایش فعالیت متابولیکی را نشان دادند. بالاترین و پایین ترین فعالیت متابولیکی باکتری‌ها در استفاده از منابع کربوهیدراتی در میکروپلت‌ها، به ترتیب در تیمار PHB و باکتری +PHB مشاهده شد که فعالیت متابولیکی باکتری‌ها در تیمار PHB، 80 درصد نسبت به تیمار باکتری +PHB بیشتر بود. نوسانات فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی هوازی در استفاده از منابع کربنی کربوکسیلیک اسیدها در میکروپلت‌ها شدید تر بود و تیمار کنترل با اختلاف زیادی (دو برابر) نسبت به سایر تیمارها دارای فعالیت شدید در استفاده از این منابع بود. اگرچه بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون، فعالیت متابولیکی باکتری‌ها در این تیمار کاهش یافت و به سطح فعالیت تیمار PHB رسید. با این حال میزان فعالیت در دو تیمار اخیر ۵۷ درصد نسبت به تیمارهای باکتری و باکتری + PHB بیشتر بود که دارای روند کاهش فعالیت بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون بودند.

بحث

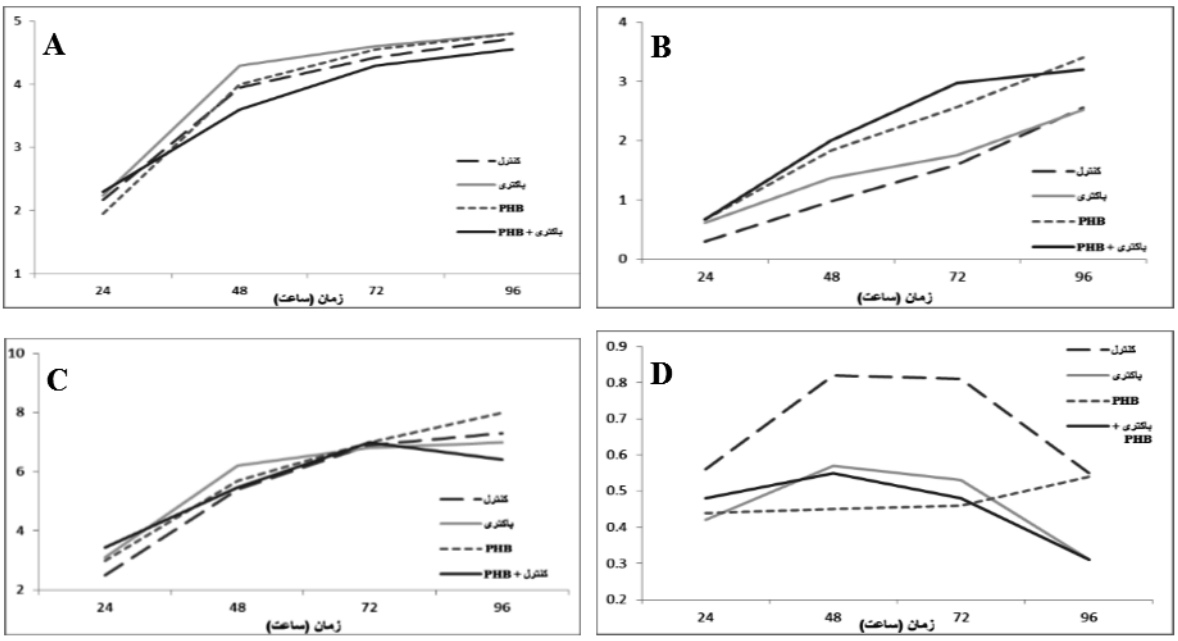
در بسیاری از مطالعات، تاثیرات مثبت فعالیت متابولیکی باکتری‌ها بر شاخص‌های مهم جانداران از جمله رشد، شاخص سلامتی روده، و همچنین مقاومت در برابر چالش‌های محیطی گزارش شده است (Najdegerami *et al.*, 2011, 2013). در سال‌های اخیر برای اندازه‌گیری این فعالیت در اکوسیستم‌های مختلف، در کنار روش-های اندازه‌گیری آنزیم‌هایی مانند بتا گالاکتاز و غیره، از روشی به نام CLPP که با میکروپلت‌های Biolog^{TM} Ecoplate قابل اندازه گیری است استفاده می‌شود. در این روش میزان فعالیت متابولیکی باکتری‌های قابل کشت (هوازی بی هوازی) بر روی منابع مختلف کربنی، اندازه‌گیری می شود و به صورت یک عدد کمی قابل ارائه است. بنابراین این روش می‌تواند برای اندازه‌گیری فعالیت متابولیکی باکتری‌ها در انتهای روده جاندارانی که از موادی مانند پری‌بیوتیک‌ها و یا اسیدهای چرب کوتاه زنجیره استفاده کردند مطرح شود. PHB به عنوان یک پلیمر طبیعی از خانواده آلکانات‌ها است که در اثر فعالیت متابولیکی باکتری‌ها (آنزیم‌های خارج سلولی) تجزیه شده و تولید β-hydroxybutyric acid می‌کند که علاوه بر کاهش pH محیط روده، به عنوان یک منبع انرژی برای فعالیت متابولیکی باکتری‌ها همچنین این ماده می تواند فعالیت متابولیکی باکتری‌های انتهای



شکل ۱- منحنی میانگین فعالیت رنگ (AWCD) یا فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی هوازی در روده بچه ماهیان تاسماهی سیبری تغذیه شده با تیمارهای غذایی در طول ۹۶ ساعت دوره انکوباسیون و ۲۵ درجه سانتیگراد.

Fig. 1. AWCD activity of anaerobic bacteria in sturgeon fingerlings fed experimental diets during 96 hour incubation at 25° C.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.1.8]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.169]



شکل ۲- A. استفاده از منابع کربنی پلیمری. **B.** اسید آمینه ای. **C.** کربوهیدرات. **D.** کربوکسیلیک اسید به وسیله باکتری‌های غیرهوازی قابل کشت در انتهای روده بچه ماهیان تاسماهی سیبری.

Fig. 2. **A.** The use of carbon source polymers. **B.** Amino acids. **C.** Carbohydrates. **D.** Carboxylic acids by cultivable anaerobic bacteria in Siberian sturgeon fingerlings.

روده (هوازی و بی هوازی) بچه ماهیان تاسماهی سیبری را که از جیره حاوی ۲ درصد PHB تغذیه کرده بودند را افزایش دهد (Najdegerami *et al*., 2011; Najdegerami, 2015).

در این مطالعه تاثیرات استفاده از PHB و دو گونه از باکتری‌های تجزیه کننده آن (*Acidovorax* sp.) بر فعالیت متابولیکی باکتری‌های قابل کشت انتهای روده (بی هوازی)، در بچه ماهیان تاسماهی سیبری، با استفاده از میکروپلت‌های اکوپلت بررسی شد. نتایج نشان داد که بچه ماهیانی که از تیمار غذایی ۲ درصد PHB استفاده کرده بودند دارای بالاترین فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی‌هوازی قابل کشت، در بین تیمارهای غذایی بودند (Najdegerami *et al*., 2011). نکته جالب این مسئله در بالا بودن میزان رشد بچه ماهیان در این تیمار بود که داده‌های مربوط به رشد در مقاله دیگری در حال انتشار است. نتایج این آزمایش با نتایج تحقیقات دیگری (Najdegerami *et al*., 2011; Najdegerami, 2015) همخوانی دارد. در تحقیقات مذکور، تاثیرات مثبت استفاده از ۲ درصد PHB بر کاهش pH روده، افزایش تنوع باکتریایی و فعالیت متابولیکی باکتری‌ها (شرایط بی هوازی و هوازی) گزارش شده بود. در مطالعات مورد اشاره تجزیه PHB به اسید چرب کوتاه زنجیره بتاهیدروکسی بوتیریک اسید و کاهش pH روده از علل افزایش فعالیت متابولیکی عنوان شده بود (Lim *et al*., 2005). در این تحقیق با توجه به اینکه باکتری‌های تجزیه کننده PHB، برای اولین بار مورد استفاده قرار می‌گرفتند، فاقد تاثیرگذاری لازم بر فعالیت متابولیکی باکتری‌های روده بودند. بررسی زنده مانی این باکتری‌ها در روده بچه ماهیان، در تحقیقات بعدی باید مورد توجه قرار گیرد که از معایب استفاده از پروبیوتیک‌ها و باکتری‌های مکمل است. برخی از گونه‌های پروبیوتیک در شرایط اسید معده و دستگاه گوارش قادر به فعالیت نبوده و به نظر می رسد باکتری‌های مورد استفاده در این تحقیق نیز در شرایط دستگاه گوارش بچه ماهیان قادر به فعالیت نبودند و توانایی تجزیه بیشتر PHB و در نتیجه افزایش فعالیت متابولیکی را نداشتند. فعالیت متابولیکی باکتری‌ها در منابع کربنی مختلف بررسی شد و نتایج نشان داد که بالاترین فعالیت متابولیکی باکتری-ها بر روی منابع کربنی اسید آمینه ای، در تیمار ۲ درصد PHB و باکتری+PHB (تیمارهای حاوی PHB) مشاهده شد. بر اساس نتایج تحقیقات (Najdegerami *et al*., 2011, 2013; Najdegerami, 2015) استفاده از PHB میزان تنوع و فلور

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.1.8]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.169]

باکتریایی انتهای روده لارو و بچه ماهیان تاسماهی ایرانی را، از طریق بهبود شرایط روده تغییر می دهد. همچنین نتایج مشابه بر روی بچه ماهیان سی بس اروپایی (De Schreyver *et al*., 2009) و بر روی لارو میگوی آب شیرین (Nhan *et al*., 2010) گزارش شد. به نظر می رسد تغییر فلور میکروبی روده و رشد برخی از باکتری‌ها مانند *Ruminococcaceae* sp. و *Bacillus* sp. در تیمارهای PHB، در روده بچه ماهیان تاسماهی سیبری (Najdegerami *et al*., 2011) از دلایل افزایش فعالیت متابولیکی باکتری‌ها باشد. فعالیت متابولیکی باکتری‌ها بر روی منابع کربنی کربوکسیلیک اسید، در تیمار۲ درصد PHB نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود و روند افزایشی داشت. لازم به ذکر است که کربوکسیلیک اسیدها (اسیدهای چرب کوتاه زنجیره) حاصل کاتابولیسم اسیدهای چرب هستند و PHB به عنوان یک پلی مر اسید چرب به وسیله باکتری‌ها تجزیه شده و به بتاهیدروکسی بوتیریک اسید تبدیل می شود که باعث کاهش pH روده می شود و همچنین به عنوان منبع انرژی مورد استفاده قرار می گیرد (Azain 2004; Defoirdt *et al*., 2007, 2009; Halet *et al*., 2007). نتایج این تحقیق با یافته‌های سایر تحقیقات (Najdegerami *et al*., 2011; Najdegerami, 2015) در مورد افزایش فعالیت متابولیکی باکتری‌ها در منابع کربنی کربوکسیلیک اسید در تیمار ۲ درصد PHB همخوانی دارد. دلایل میزان بالای فعالیت متابولیکی باکتری‌ها بر روی منابع پلیمری در تیمار باکتری هنوز معلوم نیست و نیاز به بررسی بیشتر دارد. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از PHB میزان فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی هوازی قابل کشت انتهای روده بچه ماهیان را افزایش می دهد که بازتاب این مسئله در افزایش رشد بچه ماهیان مشاهده می شود. همچنین نتایج نشان دادند که اضافه کردن باکتری‌های تجزیه کننده PHB تاثیری در افزایش تجزیه این ماده در انتهای روده ندارد و دلایل عدم تاثیر گذاری باکتری‌های تجزیه‌کننده در انتهای روده نیاز به بررسی بیشتر دارد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از مرکز رفرانس جهانی آرتمیا در دانشگاه گنت بلژیک بابت همکاری در این طرح سپاسگزاری می‌کنند.

REFERENCES

Azain, M. 2004. Role of fatty acids in adipocyte growth and development. – J. Animal Sci. 82: 916-924.

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

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

Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W., and Bossier, P. 2009. Short-chain fatty acids and poly- β -hydroxyalkanoates: (New) Biocontrol agents for a sustainable animal production. – Biotech. Adv. 27: 680-685.

Garland, J., and Mills, A. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. – App. Environ. Microb. 57: 2351-2359.

Gibson, G. and Roberfroid, M. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota introducing the concept of prebiotics. – J. Nut. 125: 1401-1412.

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 Microb. Ecol. 60: 363-369.

Insam, H. 1997. Substrate utilization tests in microbial ecology. A preface to the special issue of the Journal of Microbiological Methods. – J. Microb. Methods 30: 1-2.

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

Lim, C.C., Ferguson, L.R., Tannock, G.W. 2005. Dietary fibres as 'prebiotics': implications for colorectal cancer. – Mol. Nut. Food Res. 49: 609-619.

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

Manning, T. and Gibson, G. 2004. Prebiotics. – Best Prac. Res. Clin. Ga., 18: 287-298.

Najdegerami, E.H., Ngoc, Tran T., Defoirdt, T., Marzorati, M., Sorgeloos, P., Boon, N., and Bossier P. 2011. Effects of poly-β-hydroxybutyrate (PHB) on Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fingerlings performance and its GI tract microbial community. – Microb. Ecol. 79: 25-33.

Najdegerami, E.H. 2012. The effects of Poly-β-hydroxybutyrate on Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) larval and juveniles culture. – Ph.D. thesis, Gent University, Belgium. 203 pp.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-07-22]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.1.8]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.169]

Najdegerami, E.H., Baruah, K., Shiri, A., Rekecki, A., Van den Broeck, W., Sorgeloos, P., and Bossier P. 2013. Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) larvae fed *Artemia nauplii* enriched with poly-β-hydroxybutyrate (PHB): effect on growth performance, body composition, digestive enzymes, gut microbial community, gut histology and stress tests. – Aquacult. Res. 46: 801-812.

Najdegerami, E.H. 2015. The effects of Poly-β-hydroxybutyrate on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larval and juveniles culture. – Iran National Science Foundation. 138 pp.

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

Patnaik, P. 2005. Perspectives in the modeling and optimization of PHB production by pure and mixed cultures. – Crit. Rev. Biotech. 25: 153-171.

Smiricky-Tjardes, M., Grieshop, C., Flickinger, E., Bauer, L., Fahey, G. 2003. Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentative characteristics of growing pigs. – J Animal Sci. 81: 2535-2545.

Uchii K., Matsui K., Yonekura R., Tani K., Kenzaka T., Nasu M., 2006, Genetic and physiological characterization of the intestinal bacterial microbiota of Bluegill (*Lepomis macrochirus*) with three different feeding habits. – Microb. Ecol. 51: 277-284.

Weber, K., and Legge, R. 2009. One-dimensional metric for tracking bacterial community divergence using sole carbon source utilization patterns. – J. Microb. Method. 79: 55-61.

Yousefian, M, and Amiri, M. 2009. A review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp. – Afr. J. Biotech. 25: 313-7318.

*****

How to cite this article:

Najdgerami, E.H. and Boossier, P. 2019. The effects of the combination of bioplastic and its degrading bacteria (Genus *Acidovorax*) on the metabolic activity of anaerobic bacteria in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fingerlings hindgut by using CLPP. – Nova Biol. Reperta 6: 169-175.

نجدگرامی، ا.ح. و بوسیر، پ . ۱۳۹۸. تاثیر ترکیبی بیوپلاستیک و باکتری‌های تجزیه کننده آن از سرده *Acidovorax* بر فعالیت متابولیکی باکتری‌های بی هوازی انتهای روده، بچه ماهیان تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) به روش CLPP. – یافته‌های نوین در علوم زیستی: ۱۷۵-۱۶۹.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-07-22]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.1.8]

[DOI: 10.29252/nbr.6.2.169]