پلی‌هیدروکسی بوتیرات(PHB) در سیستم بایوفلاک(Biofloc) رویکردی نوین بعنوان بیوکنترلر(Bio controller) در سیستم‌های نوین پرورشی آبزیان

مزدک عالی محمودی[1*]، کیانوش مقدم[2]
maalimahmoudi1355@gmail.com*
[1] دکتری تخصصی، تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران
[2] دکتری دامپزشکی، گرایش بیولوژی سلولی-مولکولی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ایران

چکیده:
بیماری یکی از عوامل محدود کننده برای صنعت آبزی‌پروری است. با توجه به رشد صنعت تکثیر و پرورش میگو، شیوع بیماری‌ها عامل اصلی کاهش تولید در طی دو دهه گذشته بوده است. شیوع بیماری‌ها تنها از حضور یک پاتوژن در سیستم ناشی نمی شود، بلکه وضعیت بهداشتی و ایمنی زیستی آبزیان کشت شده در ترکیب با شرایط محیطی غیرمستقیم همچنین از عوامل بروز و نیز پیشگیری از بیماری است. تاکنون مطالعات بسیار کمی از پتانسیل ایمنی موجود در تکنولوژی بایوفلاک(BFT) مورد بررسی قرار گرفته است، اگر چه به طور گسترده‌ای مطالعاتی انجام شده است که میکروارگانیسم‌ها، اجزای سلولی آنها و یا متابولیت‌های آنها می توانند به عنوان ایمنی سازنده عمل کنند که سیستم ایمنی بدن را تقویت می‌کند و حفاظت بیشتری را در برابر بیماری‌ها ایجاد می‌کند کراب و همکاران نشان دادند که تکنولوژی بایوفلاک یک روش جایگزین ممکن برای مبارزه با باکتری‌های بیماری‌زا در حوزه آبزی‌پروری است. اختلال در کوئوروم سنسینگ(Quorum sensing) باکتریایی، ارتباط سلول به سلول و بوسیله مولکول‌های سیگنالی کوچک، به عنوان یک استراتژی جدید برای کنترل عفونت‌های باکتریایی در حوزه آبزی‌پروری پیشنهاد شده است. یکی دیگر از ویژگی‌های جالب از سیستم بایوفلاک توجه به اثرات بیوکنترلی(bio control) آن است که بواسطه وجود پلی‌هیدروکسی بوتیرات(PHB)(poly-β-hydroxybutyrate) در محیط کشت توانایی تجمع و ذخیره سازی پلی‌هیدروکسی بوتیرات در باکتری‌ها می باشد. پلی هیدروکسی بوتیرات در محیط و تجمع یافته در باکتری‌ها اثرات مثبتی را در محافظت از آبزیان از عفونت‌های باکتریایی نشان داده است.

کلمات کلیدی: بایوفلاک(Biofloc)، پلی هیدروکسی بوتیرات(PHB)، محرک ایمنی

مقدمه:

بیماری یکی از عوامل محدود کننده برای صنعت آبزی‌پروری، از جمله آبزی‌پروری در آب شیرین، پرورش میگو و ماهیان دریایی است. با توجه به صنعت تکثیر و پرورش میگو، شیوع بیماری‌ها عامل اصلی کاهش تولید در طی دو دهه گذشته بوده است. شیوع بیماری‌ها تنها از حضور یک پاتوژن در سیستم ناشی نمی شود، بلکه وضعیت بهداشتی و ایمنی زیستی آبزیان کشت شده در ترکیب با شرایط محیطی غیرمستقیم همچنین از عوامل بروز و نیز پیشگیری از بیماری است. بنابراین، پیشگیری و کنترل بیماری باید نه تنها بر روی اجرای اقدامات بیولوژیکی تمرکز کند، بلکه باید در یک روش جامع شامل شامل تغذیه مناسب، افزایش ایمنی آبزی کشت شده و حفظ کیفیت آب مناسب باشد. اصل اساسی سیستم بایوفلاک این است که مواد مغذی دفعی، به ویژه مواد آلی و نیتروژن، را به زیست توده میکروبی تبدیل و بازیافت نموده که می تواند در محیط پرورش آبزیان مورد استفاده تغذیه‌ای قرار گیرد. تاکنون مطالعات بسیار کمی از پتانسیل ایمنی موجود در تکنولوژی بایوفلاک مورد بررسی قرار گرفته است، اگر چه به طور گسترده‌ای مطالعاتی انجام شده است که میکروارگانیسم‌ها، اجزای سلولی آنها و یا متابولیت‌های آنها می توانند به عنوان ایمنی سازنده عمل کنند که سیستم ایمنی بدن را تقویت می‌کند و حفاظت بیشتری را در برابر بیماری‌ها ایجاد می‌کند(Aalimahmoudi and Mohammadi Azarm, 2017).

استفاده از تکنولوژی بایوفلاک در آبزی‌پروری (BFT)، که در این سیستم باکتری‌های هتروتروف و ریزجلبک‌ها همراه با سایر میکروارگانیسم‌ها تحت شرایط کنترل شده در محیط پرورش تولید می شوند،که این فلوکه‌ها می‌توانند هم در جهت پالایش آب و هم بصورت مکمل غذایی به مصرف آبزی برسند، می‌تواند راهگشا باشد(Avnimelech, 2007). در سیستم بایوفلاک در صورتیکه از نسبت

کربن به نیتروژن متعادل(C/N=10) استفاده گردد، می توان از کل نیتروژن و فسفر حاصل از دفعیات آبزی و غذای خورده نشده استفاده بهینه کرده و در فلاک باکتریایی آنها را ابقاء و به عنوان غذا برای آبزی استفاده نمود (Schneider *et al*., 2005). تکنولوژی بایوفلاک دو نقش اساسی دارد، نخست: حفظ و نگهداشت کیفیت آب با جذب ترکیبات نیتروژنه و تبدیل آن به پروتئین میکروبی، دوم: تغذیه و افزایش توان تولید با کاهش ضریب تبدیل غذایی و کاهش هزینه غذا و کاهش ریسک بیماری (Crab, 2010; De Schryver, 2008; Avnimelech, 2007).

بایوفلاک(BFT) و کوئوروم سنسینگ(Quorum sensing):

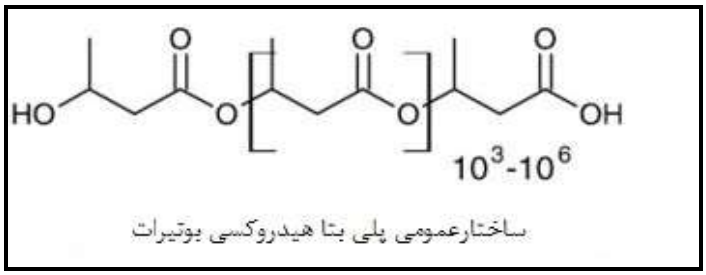
علاوه بر مزایای فناوری بایوفلاک که در بالا اشاره شد است، کراب و همکاران(2010b) نشان دادند که تکنولوژی بایوفلاک یک روش جایگزین ممکن برای مبارزه با باکتری‌های بیماری‌زا در حوزه آبزی‌پروری است. آبزی‌پروری متراکم سخت‌پوستان بویژه میگو یکی از سریعترین رشدها را در بخش‌های مختلف تولید آبزی‌پروری داراست (Wang *et al*., 2008). با وجود این موفقیت بزرگ، پرورش میگو با شیوع بیماری‌های عفونی مواجه است که موجب زیان‌های قابل توجه اقتصادی می شود. با توجه به سوءمصرف احتمالی آنتی بیوتیک‌ها در حوزه آبزیان، باکتری‌های بیماریزا در حال حاضر به بسیاری از آنتی بیوتیک‌ها مقاومت نشان می دهند و در نتیجه آنتی بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های باکتریایی دیگر موثر نیستند (Defoirdt *et al*., 2011). اختلال در کوئوروم سنسینگ (Quorum sensing) باکتریایی، ارتباط سلول به سلول و بوسیله مولکول‌های سیگنالی کوچک (Defoirdt *et al*., 2008)، به عنوان یک استراتژی جدید برای کنترل عفونت‌های باکتریایی در حوزه آبزی‌پروری پیشنهاد شده است، زیرا این مکانیسم ارتباط سلول به سلول تنظیم بیان عوامل ویروسی را نیز تنظیم می نماید(Defoirdt *et al*., 2004). جالب توجه است، اخیرا دریافتند که بایوفلاک‌هایی که در محیط حاوی گلیسرول رشد می نمایند قادر به محافظت از آرتمیا (*Artemia franciscana*) در مقابل عامل بیماری زای باکتری ویبریو هاروه‌ی (*Vibrio harveyi*) در محیط نوتوبیوتیک(gnotobiotic) بوده که این تاثیر مثبت احتمالا به علت ایجاد سیستم کوئوروم سنسینگ در برابر عامل پاتوژن بوده است(Crab *et al*., 2010b). در واقع، بقای ناپلی در چالش باکتریایی پس از افزودن بایوفلاک به محیط پرورش، 3 برابر شد. این مطابق با تحقیقات پیشین است که نشان می دهد که تولید اولیه و افزایش جمعیت‌های میکروبی در محیط، همانطور که در تکنولوژی بایوفلاک مورد استفاده قرار میگیرد، برای میگو سودمند است. با این حال، مکانیسم دقیق فعالیت محافظ زیستی و اقدامات انتخابی آن، نیاز به تحقیق بیشتر دارد(Lezama-Cervantes and Paniagua-Michel, 2010).

بایوفلاک(BFT) و پلی بتا هیدروکسی بوتیرات(poly-β-hydroxybutyrate–PHB):

یکی دیگر از ویژگی‌های جالب از سیستم بایوفلاک توجه به اثرات بیوکنترلی(bio control) آن است که بواسطه وجود پلی‌هیدروکسی بوتیرات(PHB)(poly-β-hydroxybutyrate) در محیط کشت توانایی تجمع و ذخیره سازی پلی‌هیدروکسی بوتیرات در باکتری‌ها می باشد. پلی هیدروکسی بوتیرات در محیط و تجمع یافته در باکتری‌ها اثرات مثبتی را در محافظت از آبزیان از عفونت‌های باکتریایی نشان داده است (De Schryver *et al*., 2010; Defoirdt *et al*., 2007; Dinh *et al*., 2010; Halet *et al*., 2007).

لازم به ذکر است که پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها (Polyhydroxyalkanoates)(PHAs)، ماکرومولکول‌های ساده ساختاری هستند که توسط میکروارگانیسم‌های متعدد به عنوان مواد ذخایرکربن و انرژی تولید می شوند، معمولا وقتی مواد مغذی ضروری مانند نیتروژن در حضور منبع کربن بیش از حد محدود می شوند، پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها به عنوان گرانول‌های گسسته به مقدار تا 90٪ از وزن خشک سلول انباشته می شوند. بسیاری از پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌های مختلف که تا به امروز شناخته شده‌اند عمدتا خطی هستند، و پلی‌استرهای متشکل از مونومرهای اسید چرب β-هیدروکسی است. از تمام پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها، پلی-β-هیدروکسی

بوتیرات (PHB) (شکل 1) پلیمری است که به طور گسترده شناخته شده است، که بعنوان عامل جدید بیوکنترل محیط پرورشی آبزیان محسوب می شود. پلی-β -هیدروکسی بوتیرات (PHB) یک محصول پلیمری زیست تخریب پذیر درون سلولی تولید شده توسط گونه‌های مختلف میکروارگانیسم‌ها (همانند باکتری‌های باسیلوس و لاکتوباسیلوس) به عنوان یک نوع از صرفه جویی در انرژی و کربن است (Defoirdt *et al.*, 2007). اعتقاد بر این است که این پلیمر تأثیر پیشگیری و درمان عفونت با ویبریو و مزایای پری‌بیوتیک در حوزه آبزی‌پروری را دارد.



شکل1: ساختار پلی بتاهیدروکسی بوتیرات

همچنین در مطالعه‌ای که توسط de Schryver و همکاران (2009) صورت گرفته است نشان داد که سیستم بایوفلاک(Biofloc)حاوی پلی-β -هیدروکسی بوتیرات (PHB) بین 0/9تا 16 درصد است. درصورتیکه که میزان پلی هیدروکسی بوتیرات برای پاسخگویی به نیازهای آبزیان بیش از 1 درصد نیست(Defoirdt *et al.*, 2007، ؛ De Schryver *et al.*, 2008).

نتیجه‌گیری:

پری‌بیوتیک‌ها ترکیبات غیر قابل هضمی هستند که به جیره غذایی اضافه می شوند تا عملکردهای میکروبی ارتقاء دهنده سلامت در روده تحریک کنند. اخیرا یک استراتژی کنترل زیستی در قالب پلی-بتا-هیدروکسی بوتیرات(PHB) پیشنهاد شده است. این یک ترکیب است که توسط انواع زیادی از میکروارگانیسم‌ها به عنوان ذخایر کربن و انرژی داخلی ذخیره می شود. مشخص شد که این ترکیب می تواند هم نقش تحریک سیستم ایمنی و هم نقش کوئوروم سنسینگ را در آبزی پروری ایفا نماید. پلی بتا هیدروکسی بوتیرات یک ترکیب بیولوژیکی است که می تواند با توجه به توانایی خود برای مبارزه با بیماری های بیماری زا و کنترل جامعه های میکروبی روده در آبزیان، ارزش افزوده آن را برای آبزیان به ارمغان بیاورد. با تجمع پلی بتا هیدروکسی بوتیرات در بایوفلاک، بکارگیری این تکنیک می تواند به طور بالقوه میزان مرگ و میر در طی مراحل لاروی،جوونایل و بلوغ آبزیان پرورشی را کاهش دهد.

منابع:

Aalimahmoudi, M., Mohammadi Azarm, H., 2017. Biofloc new technology and shrimp disease in super-intensive aquaculture International Journal of Fisheries and Aquatic Research ISSN: 2456-7248, Impact Factor: RJIF 5.44 www.fishjournals.com Volume 2; Issue 2; March 2017; Page No. 17-21.

Avnimelech Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge biofloc technology pond. Aquaculture. 264:140-147.

Crab R. 2010. Biofloc technology: an integrated system for the removal of nutrient and simultaneous production of feed in aquaculture. PhD thesis, Ghent university.178pp.

bio-flocs technology: De Schryver P., Crab R., Defoirdt T., Boon N., and Verstraete W., 2008. The basics of The added value for aquaculture. Aquaculture. 277: 125-137.

2010. Poly- De Schryver, P., Sinha, A.K., Baruah, K., Verstraete, W., Boon, N., De Boeck, G., Bossier, P., bacterial range-weighted richness beta-hydroxybutyrate (PHB) increases growth performance and intestinal Applied Microbiology and Biotechnology 86, 1535– in juvenile European sea bass, Dicentrarchus labrax. 1541.

sensing: an Defoirdt, T., Boon, N., Bossier, P., Verstraete, W., 2004. Disruption of bacterial quorum 240, 69–88. unexplored strategy to fight infections in aquaculture. Aquaculture

and quorum Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W., Bossier, P., 2008. Quorum sensing Defoirdt, T., ISME Journal 2, 19–26. quenching in Vibrio harveyi: lessons learned from in vivo work.

Defoirdt, T., Halet, D., Vervaeren, H., Boon, N., Van de Wiele, T., Sorgeloos, P., Bossier, P., protects Artemia franciscana Verstraete, W., 2007. The bacterial storage compound poly-β-hydroxybutyrate from pathogenic Vibrio campbellii. Environmental Microbiology 9, 445–452.
bacterial disease in Defoirdt, T., Sorgeloos, P., Bossier, P., 2011. Alternatives to antibiotics for the control of aquaculture. Current Opinion in Microbiology 14, 251–258.
Dinh, T.N., Wille, M., De Schryver, P., Defoirdt, T., Bossier, P., Sorgeloos, P., 2010. The effect of poly-β (Macrobrachium rosenbergii). Aquaculture hydroxybutyrate on larviculture of the giant freshwater prawn 302, 76–81.
Halet, D., Defoirdt, T., Van Damme, P., Vervaeren, H., Forrez, I., Van de Wiele, T., Boon, N., bacteria protect Sorgeloos, P., Bossier, P., Verstraete, W., 2007. Poly-β-hydroxybutyrate-accumulating FEMS Microbiology Ecology 60, 363– gnotobiotic Artemia franciscana from pathogenic Vibrio campbellii. 369.
on water quality Lezama-Cervantes, C., Paniagua-Michel, J., 2010. Effects of constructed microbial mats 81 and performance of Litopenaeus vannamei post-larvae. Aquaculture Engineering 42, 75
Schneider o., sereti v., eding E.H., Verreth J.A.J., 2005. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. Aquaculture Engineering. 32:379-401
immune-related genes Wang, J.-C., Chang, P.-S., Chen, H.-Y., 2008. Differential time-series expression of to dietary inclusion of β-1, 3-glucan. Fish & of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in response Shellfish Immunology 24, 113–121.