

اثرات استفاده مجزا و تلفیقی پروبیوتیک (*Lactobacillus casei*) و پریوتیک (A-MAX) در جیره غذایی بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد (GH و IGF1) در بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

- زهرا نیکی‌ملکی: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- علی شعبانی*: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- رقیه صفری: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۷

چکیده

در این آزمایش اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی (*Lactobacillus casei*)، پریوتیک AMAX و تلفیق پروبیوتیک و پریوتیک بر بیان ژن هورمون رشد (GH) و فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF1) در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی کپور با میانگین وزنی $23/7 \pm 0/35$ گرم به مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی حاوی 10^7 CFU/gr (لاکتوباسیلوس کازئی)، ۱/۰٪ پریوتیک AMAX و ترکیب پروبیوتیک و پریوتیک و جیره شاهد تغذیه شدند. در پایان دوره، از بافت کبد و مغز نمونه برداری شد و استخراج RNA انجام گرفت، برای سنتز cdNA از کیت Suprime Script RTase استفاده شد و بیان ژن‌های مذکور با استفاده از Real time PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد در گروه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک، پریوتیک و تلفیق پروبیوتیک و پریوتیک میزان بیان ژن IGF1 به ترتیب ۵/۹۴، ۵/۶۸، ۷/۸۷ برابر گروه شاهد بود. همچنین بیان ژن GH به ترتیب ۹/۲۵، ۸/۸۸، ۱۷/۳۵ برابر گروه شاهد بود. اختلاف معنی‌داری در هر دو ژن تغذیه شده با تلفیق پروبیوتیک و پریوتیک با تیمارهای مجزای پروبیوتیک و پریوتیک مشاهده شد ($P < 0/05$). نتایج این مطالعه نشان‌دهنده اثرات مفید لاکتوباسیلوس کازئی و پریوتیک AMAX به‌ویژه به‌صورت تلفیقی بر شاخص‌های رشد ماهی کپور می‌باشد ($P < 0/05$).

کلمات کلیدی: ماهی کپور، لاکتوباسیلوس کازئی، پریوتیک AMAX، IGF1، GH، رشد



مقدمه

پروتئین بود. اکرمی و همکاران (۱۳۸۸) اثر الیگوساکارید را در بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) با بهبود رشد و تغذیه این ماهیان مشاهده کردند. Dos Ali Vand و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که مکمل غذایی لاکتوباسیلوس کازئی در جیره غذایی موجب افزایش رشد ماهی شیریت می‌شود. Salamtdoustnobar و همکاران (۲۰۱۱) تأثیرات سطوح مختلف ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ گرم در کیلوگرم پریبیوتیک A-max را به شاخص‌های رشد و تغذیه بچه ماهیان انگشت قد قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار دادند و مطابق با نتایج افزودن ۰/۵ گرم پریبیوتیک A-max در هر کیلوگرم غذا منجر به بهبود معنی‌دار شرایط رشد و تغذیه این ماهیان شد. Stikow و همکاران (۲۰۰۷) تأثیر مانان الیگوساکارید در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، Sudo و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر سطوح مختلف مانان الیگوساکارید بر روی ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*)، Dimitroglou و همکاران (۲۰۱۰) اثر سطوح متفاوت پریبیوتیک مانان الیگوساکارید در گونه سیم دریایی (*Sparus aurata*) را مورد ارزیابی قرار دادند. Cuneyt suze و همکاران (۲۰۰۸) اثر باکتری لاکتوباسیلوس کازئی به‌عنوان پریبیوتیک را در لارو ماهی قزل‌آلا بررسی کردند و تأثیرات مثبتی بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی مشاهده شد. از آنجایی که در زمینه به‌کارگیری باکتری پریبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی، پریبیوتیک A-MAX و ترکیب لاکتوباسیلوس کازئی A-MAX در جیره غذایی بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد (IGF1، GH) در ماهی کپور معمولی انجام نشده است، بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی پارامترهای مذکور در پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز ۱۳۹۶ در مرکز آبی‌پروری شهیدناصر فضل برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. ماهی‌ها از بخش خصوصی در استان مازندران تهیه شدند. ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با حمام نمک ۲٪ در ۱۲ مخزن، با میانگین وزنی $23/7 \pm 0/35$ به‌صورت تصادفی در چهار تیمار ۳ تکرار، هر تکرار (تعداد ۱۵ عدد ماهی) در هر مخزن قرار داده شدند. در این آزمایش در طول دوره پرورش میانگین دمای آب 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، pH $7/9 \pm 0/15$ و میانگین اکسیژن $7 \pm 0/2$ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب با دماسنج، pH متر و اکسیژن‌متر اندازه‌گیری شد. در این آزمایش چهار تیمار با سطوح مختلف صفر (گروه شاهد)، 10^7 CFU/mL پریبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی، ۰/۱ درصد پریبیوتیک آمکس و ترکیب لاکتوباسیلوس کازئی (10^7 CFU/mL) و ای‌ماکس (۰/۱ درصد) (صفری و همکاران، ۱۳۹۵؛ صابریان جویباری و همکاران، ۱۳۹۶) تهیه می‌شود. برای هر تیمار، ۳ تکرار در نظر گرفته شده است. مواد تشکیل

صنعت آبی‌پروری یکی از منابع اصلی تأمین غذای انسان می‌باشد. این صنعت علی‌رغم رشد قابل توجه همواره با مشکلاتی رو به‌رو بوده است و در حال حاضر چالش عمده، بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده برای بهینه‌سازی رشد و ارتقاء سلامت ماهیان می‌باشد (محمودیان و همکاران، ۱۳۹۴؛ باغی و همکاران، ۱۳۹۵). استفاده از مواد افزودنی یکی از روش‌های متداول به‌منظور ارتقاء شاخص‌های رشد، میزان بقا و کارایی غذا در ماهیان پرورشی می‌باشد (ایمان‌پور و همکاران، ۱۳۹۴). از جمله این ترکیبات می‌توان به پریبیوتیک، پریبیوتیک و سین‌بیوتیک‌ها اشاره کرد. در دهه‌های اخیر به دلیل افزایش جمعیت و رویکرد عمومی، به مصرف غذاهای سالم مصرف آبیان در جهان در حال افزایش است. با توجه به این که در مراکز پرورش آبیان ۳۰ تا ۶۰ درصد هزینه‌های جاری در پرورش، مربوط به تغذیه می‌باشد، لذا سودمند کردن پرورش ماهیان نیازمند دقت جدی در تولید غذای با کیفیت و استفاده از مکمل‌های غذایی نظیر پریبیوتیک‌ها، پریبیوتیک‌ها، گیاهان و عصاره‌های گیاهی است. پریبیوتیک‌ها سلول‌های میکروبی هستند که از طریق تولید موادی نظیر ترکیبات بازدارنده، هم‌چنین رقابت بر سر مواد شیمیایی و مکان‌های اتصال و تحریک و تقویت سیستم ایمنی باعث بهبود وضعیت سلامتی و رشد میزبان می‌شود (Andani و همکاران، ۲۰۱۲). پریبیوتیک‌ها از جمله مکمل‌های مورد استفاده در آبیان هستند که با به‌سازی فلور باکتریایی روده آن‌ها موجب بهبود هضم و جذب غذا و متعاقب آن بهبود رشد و تغذیه می‌شوند. تحقیقات متعددی در رابطه با استفاده از پریبیوتیک‌ها، پریبیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها در رابطه با رشد آبیان صورت گرفته است. Hosseinifar و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند افزودن پریبیوتیک الیگوفروکتوز به جیره فیل ماهی (*Huso huso*) در مقادیر ۱، ۲ و ۳ درصد در جیره اثری بر پارامترهای رشد، ترکیبات بدن و افزایش میکروبیوتای روده‌ای نداشت اما میزان رشد در تیمار ۳ درصد کاهش یافت. در پژوهشی دیگر Hosseinifar و همکاران (۲۰۱۳)، اثرات به‌کارگیری سطوح مختلف پریبیوتیک گالاتالکتوالیگوساکارید (۰، ۱ و ۲ درصد) را در جیره غذایی بچه ماهی کلمه خزری بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه، مقاومت در برابر تنش شوری و میکروبیوتای روده‌ای بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از پریبیوتیک مذکور به‌طور معنی‌داری باعث بهبود عملکرد رشد می‌گردد. با این حال تغذیه با پریبیوتیک تأثیری بر ترکیب لاشه و تعداد کل باکتری‌های روده نداشت. اگرچه افزایش معنی‌دار تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در ماهیان تغذیه شده با سطح دودرصد مشاهده گردید. باغی و همکاران (۱۳۹۵) تأثیر لاکتوباسیل‌های پریبیوتیکی را در ماهی کپور معمولی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که تیمار 10^6 CFU/g پریبیوتیک دارای بالاترین نرخ رشد ویژه، وزن نهایی و ضریب کارایی



واکنش Real time PCR: واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از کیت سایبر شرکت بیوپارس (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی) در دستگاه IQ5 شرکت (BIO-RAD.USA) در ۴ تکرار تکنیکی در حجم ۲۰ میکرولیتر با استفاده از ۱۰ میکرولیتر بافر سایبرگیرین ۱ میکرولیتر آغازگر پیشرو ژن‌های هدف (IGF1 و GH)، ۲/۸ میکرولیتر آب مقطر، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم تگ پلیمرز (۵U) و ۵ میکرولیتر cDNA رقیق شده (۲ نانوگرم در میکرولیتر) در دمای اتصال ۵۸ درجه سانتی‌گراد انجام شد. کارایی پرایمرهای مذکور با استفاده از منحنی استاندارد رسم شده برای غلظت‌های سریالی تعیین گردید (صفری و همکاران، ۱۳۹۵) (جدول ۱).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های مربوط به بیان نسبی ژن با استفاده از فرمول: $2^{-\Delta\Delta CT}$ برابر است با ΔCT ژن هدف منهای ΔCT کالیبراتور، آنالیز و سپس نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولوموگروف اسمیرنوف تست شد. سپس توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح اطمینان ۹۵٪ تست شدند. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL ۲۰۱۰ ترسیم شد.

جدول ۱: ویژگی‌های آغازگرهای استفاده شده در این مطالعه

نام پرایمر	توالی (۵' - ۳')	دمای اتصال (C)	کارایی پرایمر
IGF1q-pCRF	GGCAGTGGTGTGTTTTGTGTC	۵۸	٪۹۸
IGFq-pCRR	CGTAGTCCCTTCCCCGTATCA		
GHq-pCRF	CTGCTTCACGCTCCATAAGA	۵۸	٪۹۹
GHq-pCRR	CTGGTCCTGGTCATCTCTCC		
B-actinq-pCRF	AGCAGATGTGGATCAGCAG	۵۸	٪۹۸
B-actinq-pCRR	TACCTCCCTTGCCAGTTTC		

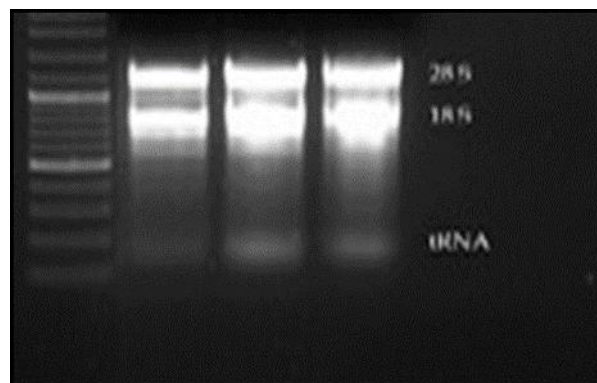
نتایج

ارزیابی بیان ژن IGF1 افزایش بیان این ژن را در گروه‌های تغذیه شده با پرپیوتیک، پرپیوتیک و مخلوط پرپیوتیک و پرپیوتیک نسبت به شاهد نشان داد. هم‌چنین در گروه تغذیه شده با جیره حاوی پرپیوتیک و پرپیوتیک و مخلوط پرپیوتیک و پرپیوتیک میزان بیان ژن IGF1 به ترتیب ۵/۹۴، ۵/۶۸ و ۷/۸۷ برابر گروه شاهد بود. اختلاف معنی‌داری در گروه تغذیه شده با مخلوط پرپیوتیک و پرپیوتیک با تیمارهای مجزای پرپیوتیک و پرپیوتیک مشاهده شد ($P < 0/05$).

دهنده هر تیمار با اضافه کردن مقداری آب ترکیب شده به غذای معمولی فرادانه تهیه شد، خمیرهای تهیه شده از چرخ گوشت عبور داده و پلت‌های مورد آزمایش ساخته شد. پلت‌های مرطوب در دمای اتاق خشک گردید.

نمونه‌برداری: در پایان دوره جهت سنجش بیان ژن‌ها از بافت‌های مغز و کبد ماهیان نمونه‌برداری و در ازت مایع قرار گرفت و سپس تا شروع آزمایشات مولکولی در فریزر ۸۰- قرار گرفت.

استخراج RNA و ارزیابی کیفی و کمی RNA استخراج شده: RNA استخراج شده به دو روش کیفی و کمی با استفاده از ژل آگاروز ۱٪ و نانوفتومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. RNA کل از ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه بافت مغز و کبد هم‌وزن شده با ازت مایع با استفاده از بیوزول و طبق دستورالعمل شرکت سازنده (Biozol-Bioflux-Bioer) استخراج شد. نتایج کیفی RNA استخراج شده از مغز ماهی کیپور تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک و پرپیوتیک را در دو باند RNA ۱۸S و ۲۸S را با وضوح بالا نشان داد.

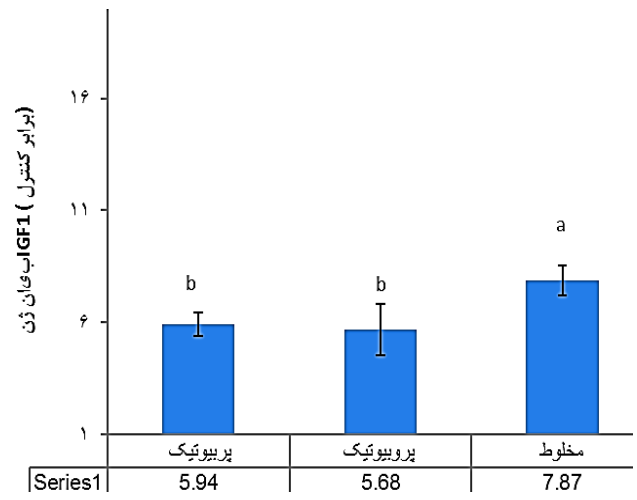


شکل ۱: کیفیت RNA استخراج شده از مغز ماهی کیپور روی ژل آگارز ۱/۱۵٪ و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید. در نمونه‌های استخراج شده دو باند متعلق به ۱۸S و ۲۸S می‌باشند.

سنتز cDNA: سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA (Suprime Script RTase) (جینت بایو-کره) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. ۵ میکرولیتر از RNA که قبلاً آماده شده به همراه ۱ میکرولیتر آغازگر الیگو به تیوپ‌های جدید اضافه شد و با آب‌عاری از نوکلئاز به حجم ۱۰ میکرولیتر رسید. سپس بر روی بلوک حرارتی در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه انکوبه گردید و سپس به روی یخ انتقال داده شد و ۱۰ میکرولیتر مستر حاوی آنزیم ریورس ترانسکریپتاز (Reverse transcriptase) به آن اضافه شد. در نهایت با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه و ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد و سپس محلول حاوی cDNA به حجم ۲۰ میکرولیتر به دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

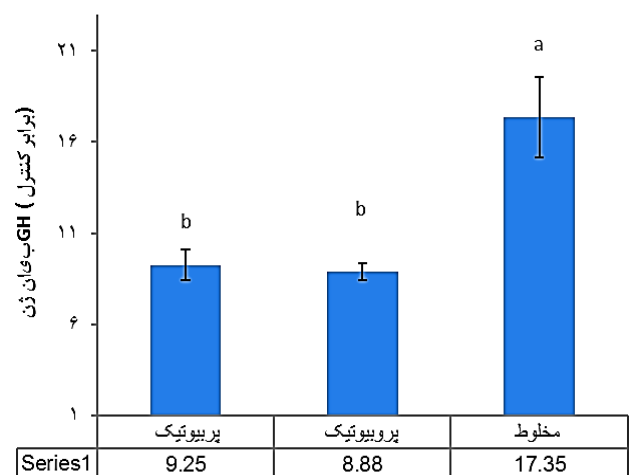
بحث

گسترش آبی‌پروری در طی ۱۰ سال گذشته، آبیان را به‌عنوان یک منبع پروتئینی حیوانی مهم در سراسر جهان تبدیل کرده است که این خود نیازمند افزایش تراکم بوده و به‌دنبال آن کاهش کیفیت آب و خطر ابتلا به بیماری‌های عفونی را همراه دارد. بیماری‌ها دارای اثرات منفی بر ماهی از جمله کاهش اشتها، کاهش بازده غذا، اختلال در رشد و تلفات می‌باشند (Alderman, 2002)، بنابراین پیشگیری و کنترل بیماری‌ها امری ضروری است. از طرفی تغذیه یک جنبه مهم در آبی‌پروری می‌باشد که پرورش‌دهندگان باید توجه خاصی به آن نمایند زیرا بخش زیادی از هزینه‌های پرورش را به‌خود اختصاص می‌دهد. در پرورش آبیان هزینه غذا به‌طور معمول ۳۰ تا ۶۰ درصد کل هزینه لازم برای سیستم‌های پرورش ماهی و سخت‌پوستان را تشکیل می‌دهد (افشارمازندران، ۱۳۸۹). از این رو می‌توان برای افزایش کارایی جیره غذایی جهت بهبود رشد و سلامت از مکمل‌ها و افزودنی‌های غذایی استفاده کرد. تاکنون مطالعات زیادی در ارتباط با استفاده از مکمل‌های غذایی (پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها) در توانایی رشد و ایمنی آبیان صورت گرفته است (Safari و همکاران، ۲۰۱۶). در این رابطه، مطالعه حاضر باهدف بررسی اثر پری‌بیوتیک A-MAX و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و ترکیب پری‌بیوتیک و پروبیوتیک بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد در ماهی کپور معمولی انجام گرفته است. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد ژن‌های مذکور افزایش معنی‌دار بیان هر دو ژن (IGF1 و GH) را در ماهیان تغذیه شده با پریبیوتیک، لاکتوباسیلوس کازئی و هم‌چنین ترکیب پروبیوتیک و پریبیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد را نشان داد ($P < 0.05$) و این مطالعه نشان‌دهنده اثرات مفید لاکتوباسیلوس کازئی و پریبیوتیک AMAX به‌ویژه به‌صورت ترکیبی بر شاخص‌های رشد و بیان ژن‌های مرتبط با رشد ماهی کپور می‌باشد. با بهبود عملکرد رشد توسط پروبیوتیک‌ها در مطالعات مختلف، تولید ویتامین‌ها، تولید ترکیبات مسمومیت‌زدا، تجزیه ذرات غیرقابل هضم، تحریک اشتها نسبت داده شده است. هم‌چنین مصرف پروبیوتیک‌ها موجب محافظت در برابر پاتوژن‌ها یا رقابت با آن‌ها در محل اتصال شده (Chabrillón و همکاران، ۲۰۰۵). تولید اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، باکتریوسین‌ها، لیزوزیم، تعدیل پاسخ فیزیولوژیک و پاسخ ایمنی ماهی را نیز در پی دارد (Balcázar و همکاران، ۲۰۰۶). بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی با استفاده از پریبیوتیک‌ها در مطالعات مختلف در رژیم غذایی، افزایش جذب گلوکز، افزایش جذب مواد معدنی (کلسیم، منیزیم و آهن)، افزایش شمار بیفیدوباکترها و لاکتوباسیلوس‌ها (باکتری‌های مفیدی می‌باشند که از پری بیوتیک‌ها به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند) و کاهش رشد باکتری‌های مضر (Longland و همکاران، ۲۰۱۶)، بهبود عملکرد ایمنی و فیزیولوژی روده



شکل ۲: تغییرات بیان نسبی ژن IGF1 به بتا‌کتین در ماهی کپور تغذیه شده با پری بیوتیک A-MAX، پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و تلفیق پری بیوتیک A-MAX و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارها می‌باشد.

بیان ژن GH نیز افزایش معنی‌داری را در گروه‌های تغذیه شده با پریبیوتیک و پروبیوتیک و مخلوط پریبیوتیک و پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P < 0.05$). هم‌چنین در گروه تغذیه شده با جیره حاوی پریبیوتیک، پروبیوتیک و مخلوط پریبیوتیک و پروبیوتیک میزان بیان ژن GH به ترتیب ۹/۲۵، ۸/۸۸ و ۱۷/۳۵ برابر گروه شاهد بود. اختلاف معنی‌داری در بین این ژن در گروه تغذیه شده با مخلوط پریبیوتیک و پروبیوتیک با گروه‌های تغذیه شده با تیمارهای مجزای هر یک از این دو مشاهده شد ($P < 0.05$).



شکل ۳: تغییرات بیان نسبی ژن GH به بتا‌کتین در ماهی کپور تغذیه شده با پری بیوتیک A-MAX، پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و تلفیق پریبیوتیک A-MAX و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارها می‌باشد.

دریایی (*Sparus aurata*) مورد ارزیابی قرار داده شدو نتایج حاصل شده نشان داد این جیره در بسیاری از مراحل پرورش این گونه به بهتر نمودن شرایط پرورش، بهبود کارایی غذا و سلامت ماهی کمک می کند (Dimitoglou و همکاران، ۲۰۱۰). استفاده از پری بیوتیک ای ماکس، شاخص های رشد لاروهای تاس ماهی ایرانی را بهبود بخشید. مکمل غذایی لاکتوباسیلوس کازئی در جیره غذایی موجب افزایش رشد ماهی شیربت می شود (Doos Ali Van و همکاران، ۲۰۱۴). در مطالعه ای که در مورد استفاده از پری بیوتیک تجاری ۱۱SpPdp بر روی رشد و بیان ژن رشد بر لارو ماهی کفشک سنگالی انجام دادند دریافتند که تجویز پری بیوتیک از اولین تغذیه خارجی سبب تأثیرات مثبتی بر رشد تک لاروی سنگال می شود با توجه به این که نمونه هایی که از این رژیم تغذیه شده اند وزن بیش تری و هم چنین افزایش غلظت کل پروتئین و فعالیت آلکالین فسفاتاز، پاسخ ایمنی اختصاصی. علاوه بر این، PCR در زمان واقعی تغییراتی را در بیان مجموعه ای از ژن های دخیل در توابع متابولیک مرکزی شامل ژن های مرتبط با رشد، ژن های کدگذاری پروتئازها (از جمله چند آنزیم های گوارشی)، به طور کلی این نتایج از استفاده از ۱۱SpPdp در مراحل اول زندگی *S. senegalensis* به عنوان یک ابزار موثر با پتانسیل واضح برای بهره برداری در آبی پروری حمایت می کند (Jurdo و همکاران، ۲۰۱۸). در مطالعه ای که بر روی پری بیوتیک های *Shewanella sp.* و *Alcaligenes sp.* AFG22 و *Bacillus sp.* AHG22 بر روی رشد و بیان ژن بر ماهی نوجوان *T. tambroides* انجام شد نشان داده شد که رشد عضلات افزایش یافته و بیان ژن مربوط به رشد نیز افزایش یافته است. نرخ رشد اختصاصی (SGR) در تمام پری بیوتیک ها به طور معنی داری بالاتر از شاهد بود مقدار FCR به میزان قابل توجهی کاهش یافت (Asaduzzaman و همکاران، ۲۰۱۸). به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که به کارگیری پری بیوتیک و پری بیوتیک به صورت مجزا و ترکیبی باعث بهبود شاخص های رشد شده و می تواند به عنوان یک مکمل غذایی در جیره کپور ماهیان مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

۱. افشارمازندران، ن.، ۱۳۸۹. کتاب راهنمای عملی تغذیه و نهاده های غذایی و دارویی آبزیان در ایران. انتشارات نوربخش. ۲۱۶ صفحه.
۲. اکرمی، ر.؛ ابراهیمی، ع.؛ شاملوفر، ف.م. و رازقی منصور، م.، ۱۳۹۳. تأثیر پری بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت لاروی ماهی قزل آلی رنگین کمان در برابر استرس های محیطی. نشریه پژوهش های ماهی شناسی کاربردی. دوره ۲، شماره ۳. صفحات ۲۹ تا ۴۲.
۳. ایمان پور، م.ر.؛ روحی، ز.؛ سلاقی، ز.؛ بیگ زاده، آ. و داودی پور، ع.ر.، ۱۳۹۴. اثر پری بیوتیک پریمالاک بر شاخص های رشد، پارامترهای

را به همراه دارد. در تیمار تلفیقی افزایش بیان ژن های رشد در مقایسه با دو تیمار مجزا را می توان به اثر هم افزایی پری بیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و پری بیوتیک A-MAX نسبت داد که پری بیوتیک ماده غذایی مورد نیاز پری بیوتیک را در دستگاه گوارش تامین می کند و باعث تنظیم فلور باکتریایی روده می شود، بدین ترتیب اثر تلفیقی پری بیوتیک و پری بیوتیک اثر افزایشی بیش تری را در رشد داشته است. IGFI و GH نقش مهمی در تنظیم تعادل رشد در همه مهره داران دارند. براساس گزارش Duan و Plisetskaya (۱۹۹۳) سطوح IGF-I mRNA کبدی در بسیاری از گونه های استخوانی به وضعیت تغذیه ای بستگی دارد. اساساً تولید هورمون رشد در هیپوفیز و ترشح درون ریز آن، طیف وسیعی از فرایندهای مربوط به تقسیمات سلولی را تحریک می نماید که این عملکرد آن ها به واسطه فاکتورهای رشد شبه انسولینی (IGFs) صورت می گیرد (Van Der. Kraak و Nelson، ۲۰۱۰). بنابراین، تولید IGF-I وابسته به تولید GH و رهاسازی آن است که در نهایت، از طریق محور مغزی هیپوتالاموسی و وضعیت تغذیه ای (مصرف غذا و جذب مواد مغذی) تحت کنترل قرار می گیرد (Bekcan و همکاران، ۲۰۰۶). Carnevali و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که افزودن پری بیوتیک به جیره غذایی ماهی باس دریایی باعث افزایش بیان ژن IGFI نسبت به گروه شاهد شد. هم چنین Hassan و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که جیره حاوی سین بیوتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و مانان الیگوساکارید) فروکتو الیگوساکارید باعث افزایش بیان ژن IGFI ماهی تیلاپیا نیل شد. بررسی تأثیرات سطوح مختلف ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ گرم در کیلوگرم پری بیوتیک A-MAX را به شاخص های رشد و تغذیه بچه ماهیان انگشت قد قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نشان داد که افزودن ۰/۵ گرم پری بیوتیک A-MAX در هر کیلوگرم غذا منجر به بهبود معنی دار شرایط رشد و تغذیه این ماهیان شده است (Salamatdoustnobar و همکاران، ۲۰۱۱). اثر مانان الیگوساکارید در بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) موجب بهبود رشد و تغذیه این ماهیان شد (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۸). تأثیر مانان الیگوساکارید در ماهی قزل آلی رنگین کمان بررسی شد و نتایج حاصل همراه با به سازی فلور باکتریایی روده آن ها موجب بهبود هضم و جذب غذا و متعاقب آن بهبود رشد و تغذیه می شوند (Staykov و همکاران، ۲۰۰۷). تأثیر مانان الیگوساکارید روی ماهی قزل آلی رنگین کمان مورد بررسی قرار گرفت، نتایج حاصل شده نشان داد بهبود جیره های غذایی فرموله شده موجب افزایش بهینه سازی رشد و ارتقا سلامت ماهیان شده است (قبادی و همکاران، ۱۳۹۲). تأثیر سطوح مختلف مانان الیگوساکارید بر روی ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) موجب افزایش شاخص های رشد، بازماندگی و ترکیبات لاشه ماهیان شد (Sado و همکاران، ۲۰۰۸). اثر سطوح متفاوت پری بیوتیک مانان الیگوساکارید در گونه سیم

۱۶. Chabrilón, M.; Rico, R.; Arijo, S.; Díaz-Rosales, P.; Balebona, M. and Moriñigo, M., 2005. Interactions of microorganisms isolated from gilthead sea bream, *Sparus aurata* L., on *Vibrio harveyi*, a pathogen of farmed Senegalese sole. *J. Fish. Dis.* Vol. 28, pp: 531-537.
۱۷. Doos Ali Van, Z.; Alishahi, M. and Tabande, M.R., 2014. Effects of different levels of *Lactobacillus casei* as probiotic on growth performance and digestive enzymes activity of *Barbus grypus*. *International Journal of Biosciences.* Vol. 4, pp: 106-116.
۱۸. Duan, C. and Plisetskaya, E.M., 1993. Nutritional regulation of insulin-like growth Factor-I mRNA expression in salmon tissues. *J of Endocrinology.* Vol. 139, pp: 243-252.
۱۹. Dimitroglou, A.; Merrifield, D.L.; Moate, R.; Davies, S.J.; Spring, P. and Sweetman, J., 2010. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture.* Vol. 300, pp: 182-188.
۲۰. Hassan, M.S.M.I.; Moustafa, M.M.A.; EL-Garhy, H.A.S., and Refaat, M.H., 2015. The influence of symbiotic on growth and expression of GH, GHR1 and IGF-I genes in *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Journal of Fisheries and Aquaculture.* Vol. 6, pp: 176-182.
۲۱. Jurado, J.; Villasanta-González, A.; Tapia-Paniagua, S. T.; Balebona, M.C.; de la Banda, I.G.; Moriñigo, M.A. and Prieto-Álamo, M.J., 2018. Dietary administration of the probiotic *Shewanella putrefaciens* Pdp11 promotes transcriptional changes of genes involved in growth and immunity in *Solea senegalensis* larvae. *Fish & shellfish immunology.* Vol. 77, pp: 350-363.
۲۲. Longland, T.M.; Oikawa, S.Y.; Mitchell, C.J.; Devries, M.C. and Phillips, S.M., 2016. Higher compared with lower dietary protein during an energy deficit combined with intense exercise promotes greater lean mass gain and fat mass loss: a randomized trial. *Am. J. Clin. Nutr.* Vol. 103, pp: 738-746.
۲۳. Nelson, S.N. and Van der Kraak, G., 2010. Characterization and regulation of the insulin-like growth factor (IGF) system in the zebrafish (*Danio rerio*) ovary. *Gen Comp Endocrinol.* Vol. 168, pp: 111-120.
۲۴. Norouzi, M.; Meftah, H. and Karimzadeh, S., 2010. The Study of Effect of dietary Mannan oligosaccharides as prebiotic on growth performance and some blood metabolites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *ISFNF.* 275 p.
۲۵. Sado, R.J.; Bicudo, A.J.D.A. and Cyrino, J.E.P., 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharid to juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. *Journal of World Aquaculture Society.* Vol. 39, pp: 821-826.
۲۶. Safari, R.; Adel, M.; Lazado, C.C.; Caipang, C.M. and Dadar, M., 2016. Host-derived probiotics *Enterococcus casseliflavus* improves resistance against *Streptococcus iniae* infection in rainbow trout via immunomodulation. *Fish Shellfish Immun.* Vol. 52, pp: 198-205.
۲۷. Salamatdoustnobar, R.; Ghorbani, A.; Ghaem maghami, S. and Motalebi, V., 2011. Effect of prebiotic on the fingerling rainbow trout performance parameters (*Oncorhynchus mykiss*). *World journal of fish and marine science.* Vol. 3, No. 4, pp: 305-330.
۲۸. Staykov, Y.; Spring, P.; Denev, S. and Sweetman, J., 2007. Effect of mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International.* Vol. 15, pp: 153-161.
- بیوشیمیایی خون، بازماندگی و مقاومت در برابر تنش شوری بچه ماهی کپور معمولی دریایی. علوم و فنون شیلات. دوره ۴، شماره ۳، صفحات ۱۷ تا ۲۸.
۴. باغتی، ف.؛ آبرومند، ع.؛ ضیائی‌نژاد، س. و جواهری‌بابلی، م.، ۱۳۹۵. تأثیر لاکتوباسیلوس‌های پروبیوتیکی تجاری بر پارامترهای رشد، بقاء و شاخص‌های تغذیه‌ای ماهی کپور معمولی. نشریه توسعه آبی‌پروری. سال ۱۰، شماره ۴، صفحات ۳۴ تا ۴۹.
۵. صفری، ر.؛ حسینی‌فر، س.ح. و خلیلی، م.، ۱۳۹۵. اثرات به‌کارگیری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و پودر قارچ صدفی در جیره بر بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی (TNF- α و IL1b) در ماهی زبرا. طرح پژوهشی دانشکده شیلات و محیط زیست. ۷۰ صفحه.
۶. خدابخش، ا. و قبادی، ش.، ۱۳۹۲. تأثیر مخلوط پروبیوتیک الیگوساکارید (MOS) و بتا و ۳-گلوکان بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و ترکیب لاشه بچه‌ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*). علوم تکثیر و آبی‌پروری. سال ۱، شماره ۱، صفحات ۴۱ تا ۵۴.
۷. صابریان‌جوباری، م.؛ قبادی، ش. و وطن‌دوست، ص.، ۱۳۹۵. تأثیر سطوح مختلف پری‌بیوتیک A-MAX بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و ترکیبات لاشه در بچه‌ماهی کپور معمولی. نشریه توسعه آبی‌پروری، دوره ۲، شماره ۱، صفحات ۶۳ تا ۷۵.
۸. محمودیان، ا.؛ کرامت‌امیرکلایی، ع.؛ اکرمی، ر. و بهلکه، ا.، ۱۳۹۴. بررسی اثر پری‌بیوتیک آلفامیون و پروبیوتیک پروتکسین به صورت انفرادی و ترکیبی بر رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی. پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی. دوره ۳، شماره ۱، صفحات ۹۳ تا ۱۰۴.
۹. Alderman, D.J., 2002. Trends in therapy and prophylaxis. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists.* Vol. 22, No. 2, pp: 117-125.
۱۰. Andani, H.R.R.; Tukmechi, A.; Meshkini, S. and Sheikhzadeh, N., 2012. Antagonistic activity of two potential probiotic bacteria from fish intestines and investigation of their effects on growth performance and immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Applied Ichthyology.* Vol. 28, pp: 728-734.
۱۱. Asaduzzaman, M.; Sofia, E.; Shakil, A.; Haque, N.F.; Khan, M.N.A.; Ikeda, D.; Kinoshita, S. and Abol-Munafi, A.B., 2018. Host gut-derived probiotic bacteria promote hypertrophic muscle progression and upregulate growth-related gene expression of slow-growing Malaysian Mahseer *Tor tambroides*. *Aquaculture Reports.* Vol. 9, pp: 37-45.
۱۲. Balcázar, J.L.; Vendrell, D.; De Blas, I.; Ruiz-Zarzuola, I. and Múzquiz, J.L., 2009. Effect of *Lactococcus lactis* CLFP 100 and *Leuconostoc mesenteroides* CLFP 196 on *Aeromonas salmonicida* infection in brown trout (*Salmo trutta*). *J. Mol. Microb. Biotech.* Vol. 17, pp: 153-157.
۱۳. Bekcan, S.; Dogankaya, L. and cakirogollari, G.C., 2006. Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis*) fed diet containing different percentages of protein. *The Israeli j of Aquaculture.* Vol. 58, No. 2, pp: 137-142.
۱۴. Boloki, M.L.; Jafaryan, H.; Faramarzi, M. and Adineh, H., 2011. The effects of Amax yeast fed to Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae via bioenrichment of *Daphnia magna*. *AAAC Bioflux.* Vol. 4, pp: 361-367.
۱۵. Carnevali, O.; de Vivo, L.; Sulpizio, R.; Gioacchini, G.; Olivotto, I.; Silvi, S. and Cresci, A., 2006. *Aquaculture.* Vol. 258, pp: 430-438.

