

The effect of using synbiotic pectin and *Lactobacillus plantarum* on growth performance and expression of genes related to growth in beluga sturgeon (*Huso huso*)

Esmail Jabbari¹, Valiollah Jafari^{*2}, Roghieh Safari³, Seyed Hossein Hoseinifar⁴,
Mohammadreza Imanpour⁵

1. Ph.D. Student, Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: arti.deh@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: v.jafari.sh110@gmail.com
3. Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: fisheriessafari@yahoo.com
4. Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hossein.hoseinifar@gmail.com
5. Professor, Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: imanpoor53@yahoo.com

Article Info

ABSTRACT

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 02.20.2022

Revised: 05.28.2022

Accepted: 06.07.2022

Keywords:

Gene expression,
Growth performance,
Prebiotib,
Probiotic

Increasing the growth and immune system of beluga sturgeon (*Huso huso*) which is a valuable species is an important aim for aquaculture so The purpose of this study was to investigate the effect of pectin and *L. plantarum* on growth performance and growth genes of juvenile beluga sturgeon (*Huso huso*). Triplicate groups of beluga juveniles each (15 ± 3 g) were placed in 9 oval tanks (400) and fed with the 10^7 cfu g⁻¹, 10^8 cfu g⁻¹, pectin (1%), pectin (2%), 10^7 cfu g⁻¹ and 1% pectin, 10^7 cfu g⁻¹ and 2% pectin, 10^8 cfu g⁻¹ and 1% pectin, 10^8 cfu g⁻¹ and 2% pectin and control group. The trial lasted 8 weeks. At the end of experiment biometry was done and brain and liver tissue were separataed. Results showed that although pectin and *L. plantarum* could enhance growth factors separately, the highest FW, GW and SGR was observed in fish fed 10^8 cfu g⁻¹ and 2% pectin which had significant differences with others treatments and control ($P < 0.05$). Also the highest genes expression was in this treatment and the lowest in control. In general, pectin and *L. plantarum* could significantly affect growth performance in juvenile blugae.

Cite this article: Jabbari, Esmail, Jafari, Valiollah, Safari, Roghieh, Hoseinifar, Seyed Hossein, Imanpour, Mohammadreza. 2023. The effect of using synbiotic pectin and *Lactobacillus plantarum* on growth performance and expression of genes related to growth in beluga sturgeon (*Huso huso*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 1-12.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2022.19976.1633

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تأثیر استفاده از سین‌بیوتیک پکتین و لاکتوباسیلوس پلانناروم (*Lactobacillus plantarum*) بر عملکرد رشد و بیان ژن‌های مرتبط با رشد بچه‌فیل ماهی (*Huso huso*)

اسماعیل جباری^۱، ولی‌اله جعفری^{۲*}، رقیه صفری^۳، سید حسین حسینی‌فر^۴، محمدرضا ایمان‌پور^۵

۱. دانشجوی دکتری گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: arti.deh@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: v.jafari.sh110@gmail.com
۳. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: fisheriessafari@yahoo.com
۴. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hossein.hoseinifar@gmail.com
۵. استاد گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: imanpoor53@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	فیل ماهی از گونه‌های ارزشمند است که بهبود تغذیه آن‌ها جهت رسیدن به رشد بیش‌تر و افزایش سیستم ایمنی از اهداف مهم آبی‌پروری می‌باشد. به همین منظور هدف از این مطالعه بررسی اثر پکتین و لاکتوباسیلوس پلانناروم بر فاکتورهای رشد و بیان ژن‌های GH و IGF فیل ماهی می‌باشد. به همین منظور تعداد ۱۲۰ قطعه بچه‌فیل ماهی با میانگین وزنی 15 ± 3 گرم به صورت کاملاً تصادفی در تانک‌های ۴۰۰ لیتری توزیع شدند. تیمارها شامل شاهد، جیره حاوی پکتین (۱ درصد)، پکتین (۲ درصد)، پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (10^7 cfu g ⁻¹)، پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (10^8 cfu g ⁻¹)، ترکیب پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (10^7 cfu g ⁻¹) و پکتین (۱ درصد)، ترکیب پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (10^8 cfu g ⁻¹) و پکتین (۱ درصد)، ترکیب پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (10^7 cfu g ⁻¹) و پکتین (۲ درصد) و ترکیب پروبیوتیک <i>L. plantarum</i> (10^8 cfu g ⁻¹) و پکتین (۲ درصد) بودند. پس از ۸ هفته تغذیه زیست‌سنجی به منظور ارزیابی فاکتورهای رشد انجام شد و جهت ارزیابی بیان ژن نمونه‌برداری از مغز و کبد انجام شد. در پایان دوره آزمایش نتایج نشان داد که اگرچه استفاده از پکتین و لاکتوباسیلوس پلانناروم به صورت منفرد در جیره باعث افزایش عملکرد رشد شد اما بالاترین میزان وزن
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۰۱	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۳/۰۷	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۷	
واژه‌های کلیدی: بیان ژن، پروبیوتیک، پروبیوتیک، عملکرد رشد	

نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه و کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با سطح ۲ درصد پکتین و 10^8 cfu g^{-1} بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها و گروه شاهد داشت ($P < 0/05$). هم‌چنین بیش‌ترین سطح بیان ژن‌های IGF و GH نیز در این تیمار مشاهده شد و کم‌ترین سطح بیان در گروه شاهد بود. به‌طورکلی ترکیب پکتین و لاکتوباسیلوس پلانتاروم به‌ترتیب ۲ درصد و 10^8 cfu g^{-1} در جیره دارای اثرات مثبت و معنی‌داری روی عملکرد رشد بچه‌فیل ماهی می‌باشد.

استناد: جباری، اسماعیل، جعفری، ولی‌اله، صفری، رقیه، حسینی‌فر، سید حسین، ایمان‌پور، محمدرضا (۱۴۰۲). تأثیر استفاده از سین‌بیوتیک پکتین و لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) بر عملکرد رشد و بیان ژن‌های مرتبط با رشد بچه‌فیل ماهی (*Huso huso*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۱-۱۲.

DOI: 10.22069/japu.2022.19976.1633



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

فیل ماهی یکی از مهم‌ترین گونه‌های ماهیان خاویار در قسمت جنوبی دریای خزر می‌باشد که به دلیل تولید خاویار با کیفیت و ارزشمندی گوشت از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. این گونه از جهت رشد سریع، امکان تولیدمثل در شرایط اسارت، تامین لارو و بچه‌ماهی با هزینه کم‌تر گزینه بسیار مناسبی برای پرورش نسبت به سایر گونه‌های ماهیان خاویار به‌شمار می‌آید. امروزه به دلیل صید بی‌رویه جهت استحصال گوشت خاویار، تخریب زیستگاه‌ها و مکان‌های طبیعی تخم‌ریزی و وجود بیماری‌ها و عفونت‌ها در معرض خطر انقراض قرار گرفته است از این‌رو این گونه جهت تکثیر مصنوعی به صنعت آبزی‌پروری معرفی شده است (۱).

در صنعت آبزی‌پروری بهبود عملکرد رشد و افزایش مقاومت آبزیان از مهم‌ترین دغدغه‌های فعالان این صنعت می‌باشد بدین منظور مطالعات گسترده‌ای در خصوص یافتن ترکیبات مناسب جهت افزایش رشد و مقاومت آبزیان صورت گرفته است (۲). از جمله ترکیبات افزودنی به جیره که در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از پژوهش‌گران قرار گرفته است. استفاده از پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها در جیره آبزیان است. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اگر به اندازه کافی مصرف شوند از طریق حفظ تعادل جمعیت میکروبی روده می‌توانند به میزان سود برسانند همچنین با تولید ویتامین‌هایی مانند B2 و تجزیه ترکیبات غیر قابل هضم، اشتها را تحریک می‌کنند و شرایط تغذیه‌ای بهتری را در ماهی ایجاد می‌کنند (۳). میکروارگانیسم‌هایی به‌عنوان پروبیوتیک شناخته می‌شوند که بتوانند از جداره معده و روده عبور کرده و تکثیر یابند همچنین با تولید متابولیت‌های آنتاگونیستی با میکروفلور ساپروفیت به رقابت بپردازند این توانایی در گروه بزرگی از

باکتری‌های اسید لاکتیک (باکتوسل‌ها) مشاهده می‌شود (۴).

پربیوتیک‌ها نوع بسیار خاصی از مواد غذایی غیرقابل هضم در بدن هستند که به طور انتخابی سبب تحریک رشد و یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های روده بزرگ شده و با تغییرات سودمند خود منجر به بهبود سلامت میزبان می‌گردند (۵). مهم‌ترین محصول تولید شده از متابولیسم پربیوتیک‌ها اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌باشند که می‌توانند از روده عبور کنند و به‌عنوان منبع انرژی مورد استفاده قرار گیرند و باعث بهبود جذب مواد غذایی شوند. تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر منجر به کاهش pH روده شده که محیط مناسبی را برای رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک فراهم می‌کند (۶).

اخیراً استفاده ترکیبی از این دو ماده تحت عنوان سین‌بیوتیک مطرح شده است که به‌عنوان مکمل در جیره آبزیان استفاده می‌شود. سین‌بیوتیک ترکیبی از پروبیوتیک و پربیوتیک است که از طریق حفظ غالبیت باکتری‌های پروبیوتیکی موجود در میکروبیوتای روده به‌واسطه مصرف پربیوتیک‌ها یا الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم اثرات سودمندی بر میزبان دارد (۷). مطالعات متعددی در ارتباط با استفاده از پروبیوتیک، پربیوتیک و سین‌بیوتیک در جیره آبزیان و اثرات معنادار آن‌ها بر فاکتورهای رشد، اشتها، فاکتورهای بیوشیمیایی خون، افزایش بازده غذا، بهبود عملکرد دستگاه گوارش از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ساختار روده و بهبود پاسخ‌های ایمنی انجام شده است (۸، ۹، ۱۰، ۱۱).

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط آزمایشگاهی: تعداد ۱۲۰ قطعه بچه‌ماهی بامیانگین وزنی 15 ± 3 گرم از بخش خصوصی تهیه و به آزمایشگاه شهید ناصر فضلی

حاوی پکتین ۱ درصد (تیمار ۲)، پکتین ۲ درصد (تیمار ۳)، تیمار ۴ پروبیوتیک *L. plantarum* (10^7 cfu g⁻¹)، تیمار ۵ پروبیوتیک *L. plantarum* (10^8 cfu g⁻¹)، تیمار ۶ ترکیب پروبیوتیک *L. plantarum* (10^7 cfu g⁻¹) و پکتین ۱ درصد، تیمار ۷ ترکیب پروبیوتیک *L. plantarum* (10^8 cfu g⁻¹) و پکتین ۱ درصد، تیمار ۸ ترکیب پروبیوتیک *L. plantarum* (10^7 cfu g⁻¹) و پکتین ۲ درصد و تیمار ۹ ترکیب پروبیوتیک *L. plantarum* (10^8 cfu g⁻¹) و پکتین ۲ درصد تهیه شد (۱۲). مواد افزودنی با استفاده از محلول ژلاتین ۵ درصد به جیره پایه اسپری شدند. جیره شاهد تنها دارای محلول ژلاتین بود. غذاها پس از خشک شدن به کیسه‌های پلاستیکی منتقل و در یخچال نگهداری شدند.

برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. ماهیان پس از دو هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه به صورت تصادفی در ۹ گروه با ۳ تکرار با تراکم ۱۳ عدد در هر تانک ۴۰۰ لیتری توزیع شدند و روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن به مدت ۸ هفته غذایی شدند. همه فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب روزانه اندازه‌گیری و ۵۰ درصد آب تانک‌ها تعویض می‌شد.

تهیه غذا و تیماربندی: غذا از شرکت آبزیان مازندران ساری تهیه شد. پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانٹاروم و پروبیوتیک پکتین پوست پرتغال مورد استفاده در این تحقیق به ترتیب از مرکز ارزیابی ذخایر زیستی ایران (IBRC-M 10917) و دانشگاه چیانگ مای تایلند تهیه شدند. هشت جیره شامل شاهد (تیمار ۱)، جیره

جدول ۱- تجزیه تقریبی جیره پایه (درصد ماده خشک).

۴۳	پروتئین
۱۷	چربی
۲/۵	فیبر
۱۲	خاکستر
۱۰	رطوبت
۴۳۰۰	انرژی (کالری در گرم)

ضریب تبدیل غذایی = مقدار کل غذای خورده شده / مقدار کل وزن اضافه شده
 کارایی پروتئین = مقدار وزن اضافه شده / درصد پروتئین جیره
 بقا = تعداد ماهیان بعد از دوره پرورش - تعداد ماهیان ابتدای دوره پرورش

نمونه‌برداری: در پایان ۸ هفته تغذیه ماهیان جهت نمونه‌برداری از مغز و کبد با محلول گل میخک بیهوش شدند و در شرایط کاملاً استریل بافت‌های مغز

اندازه‌گیری فاکتورهای رشد: ماهیان هر ۱۴ روز جهت تصحیح میزان غذا زیست‌سنجی می‌شدند. در پایان دوره آزمایش (۸ هفته) زیست‌سنجی نهایی به منظور سنجش پارامترهای رشد انجام شد و عملکرد رشد با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شد (۱۲، ۱۳).

افزایش وزن بدن = وزن نهایی - وزن اولیه
 نرخ رشد ویژه = لگاریتم (وزن نهایی) - لگاریتم وزن اولیه / طول دوره پرورش (× ۱۰۰)

صورت گرفت که محتویات هر تیوپ ۲۰ میکرولیتر بود. برای ساخت مستر ۱۰ میکرولیتر بافر سایبر گرین، ۱ میکرولیتر آغازگر پیش‌رونده ژن هدف، ۱ میکرولیتر آغازگر پس‌رونده ژن هدف، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم تگ پلیمرز و ۶/۴ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز استفاده شد. هر ویال مخصوص PCR، محتوی ۲ میکرولیتر cDNA و ۱۸ میکرولیتر مستر بود.

طراحی پرایمر: جهت مطالعه بیان ژن از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های هدف و رفرنس که بر اساس توالی‌های موجود در بانک ژن NCBI طراحی شدند استفاده گردید.

و کبد جدا شدند و پس از انتقال به میکروتیوپ‌های استریل بلافاصله به نیتروژن مایع منتقل شدند. سپس تا زمان استخراج RNA در فریزر ۸۰- نگهداری شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA: در این آزمایش استخراج RNA بر اساس پروتوکل استخراج RNA توسط ماده هضم‌کننده RNX-Plus انجام شد. هم‌چنین سنتز cDNA با استفاده از مسترمیکس سنتز cDNA شرکت جینت بایو محصول کشور کره و طبق دستورالعمل آن انجام شد.

انجام Real time PCR: در تیوپ‌های مخصوص آن و در ۴ تکرار تکنیکی برای هر تیمار

جدول ۲- توالی پرایمرهای (GH و IGF) و ژن رفرنس (B-Actine).

نام پرایمر	توالی	طول قطعه (جفت باز)	شماره دسترسی
GH-F	TGTGGCTCTCATGAGGGAT	200	AB517597.1
GH-R	CTGCATTTTCATCACTTTCAGG		
IGF-F	GACACGCTTTGTGTGTGGAG	190	AB512770.1
IGF-R	ACTCGTTCACGATGCCCTGTGGTG		
Beta-Actine-F	TTGCCATCCAGGCTGTGCT	215	AY878120.1
Beta-Actine-R	TCTCGGCTGTGGTGAA		

وزن نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در تیمار سین‌بیوتیک یعنی گروه ماهیان تغذیه شده با ترکیبی از ۲ درصد پکتین و 10^8 cfu g⁻¹ لاکتوباسیلوس پلانتاروم بود که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و تیمارهایی که تنها پرپیوتیک و پرپیوتیک در جیره آنها بود داشت ($P < 0.05$). بین سطوح مختلف پرپیوتیک با هم و پرپیوتیک با هم در این فاکتورها اختلاف معناداری مشاهده نشد هر چند این تیمارها با شاهد اختلافشان معنی‌دار بود ($P < 0.05$). کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۸ (۲ درصد پکتین و 10^8 cfu g⁻¹)

تجزیه و تحلیل داده‌ها: بیان نسبی ژن‌های IGF و GH با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ توسط نرم‌افزار اکسل انجام شد. هم‌چنین تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه با استفاده از نرم‌افزار Spss ۲۲ انجام شد. آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از ارزیابی عملکرد رشد در جدول ۳ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که بالاترین میزان

تأثیر استفاده از سین بیوتیک پکتین و لاکتوباسیلوس پلانٹاروم ... / اسماعیل جباری و همکاران

مشاهده شد که اختلاف معنی داری با گروه شاهد و تیمارهای پریبیوتیکی و پروبیوتیکی داشت ($P < 0/05$). بالاترین ضریب تبدیل غذایی هم در گروه شاهد بود. عملکرد رشد در گروه ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف پروبیوتیک *L. plantarum* بهتر از تیمارهایی بود که در جیره آن‌ها از پریبیوتیک پکتین استفاده شده بود و این اختلافات در سطح معنی داری مشاهده شد ($P < 0/05$).

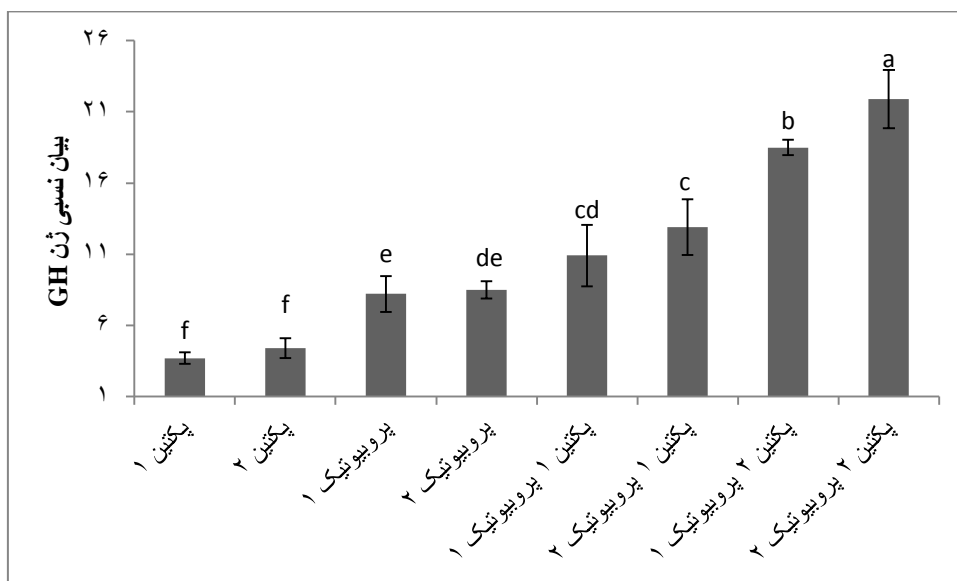
جدول ۳- نتایج حاصل از ارزیابی عملکرد رشد در تیمارهای مختلف.

عملکرد رشد	شاهد (۰)	تیمار ۱ (۱ درصد پکتین)	تیمار ۲ (۲ درصد پکتین)	تیمار ۳ (۱۰ ^۷ پروبیوتیک)	تیمار ۴ (۱۰ ^۸ پروبیوتیک)	تیمار ۵ (۱ درصد پکتین و ۱۰ ^۷ پروبیوتیک)	تیمار ۶ (۱ درصد پکتین و ۱۰ ^۸ پروبیوتیک)	تیمار ۷ (۲ درصد پکتین و ۱۰ ^۷ پروبیوتیک)	تیمار ۸ (۲ درصد پکتین و ۱۰ ^۸ پروبیوتیک)
وزن اولیه (g)	۹۱/۵۶±۱۵/۸۷	۹۱/۳۶±۱۵/۹۹	۹۲/۱۲±۱۵/۹۴	۹۲/۳±۱۵/۹۳	۹۱/۵۱±۱۵/۸۲	۹۱/۳۰±۱۵/۹۹	۹۱/۷۰±۱۵/۱۴	۹۲/۱۰±۱۵/۹۰	۹۲/۱۳±۱۵/۹۱
وزن نهایی (g)	۵/۱۴±۹۳/۶۸	۹۷/۰۳±۱۰۶/۹۳	۹۷/۵۳±۱۲۵/۳۶	۹۹/۱۷±۱۶۳/۱۳	۹۹/۱۳±۱۸۱/۱۸	۹۶/۴۵±۱۸۸/۹۲	۹۶/۲۱±۱۹۰/۸۲	۹۶/۲۷±۱۹۳/۵۴	۹۴/۵۵±۲۰۱/۱۶
افزایش وزن (g)	۴/۸۷±۷۷/۸۱	۵/۸۳±۱۰۲/۰۰	۵/۳۵±۱۰۰/۹۴	۷/۹۱±۱۴۳/۲۳	۸/۶۲±۱۴۶/۹۶	۷/۴۷±۱۶۷/۹۹	۷/۳۶±۱۷۵/۵۸	۷/۲۸±۱۷۷/۳۳	۶/۶۸±۱۸۵/۲۵
نرخ رشد ویژه (درصد)	۰/۱۰±۳/۱۷	۰/۱۲±۳/۶۲	۰/۳۲±۳/۶۸	۰/۴۱±۴/۱	۰/۳۳±۴/۱۶	۰/۰۲±۴/۳۶	۰/۲۴±۴/۵۳	۰/۲۲±۴/۴۷	۰/۲۸±۴/۵۴
ضریب تبدیل غذایی	۹۰/۱۴±۱/۸۳	۸۰/۱۱±۱/۴۲	۸۰/۰۵±۱/۴۱	۷۰/۰۷±۱/۱۴	۷۰/۱۴±۱/۲۱	۷۰/۰۹±۱/۰۹	۷۰/۰۸±۱/۰۲	۷۰/۰۶±۱/۰۴	۷۰/۰۳±۱/۰۱
بازماندگی (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد.

کرده است. بین سطوح مختلف تیمارهای پریبیوتیکی با هم و همچنین تیمارهایی که در جیره آن‌ها از پروبیوتیک استفاده شده بود اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$) هر چند میزان بیان در گروه‌های پروبیوتیکی بالاتر بود و اختلاف معنی داری را با گروه‌های پریبیوتیکی نشان دادند ($P < 0/05$).

نتایج به دست آمده از ارزیابی بیان ژن رشد در شکل ۱ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که بالاترین سطح افزایش بیان ژن رشد در تیمار سین بیوتیک (۲ درصد پکتین و 10^8 cfu g^{-1}) بود که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها و گروه شاهد داشت ($P < 0/05$). به طور کلی با افزایش سطح مصرف پکتین و *L. plantarum* میزان بیان ژن رشد نیز افزایش پیدا

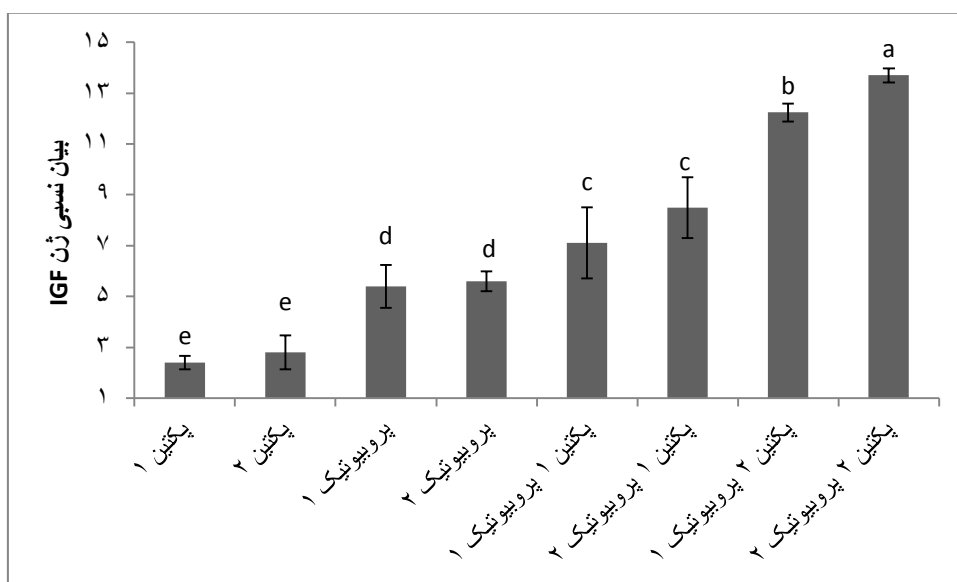


شکل ۱- نتایج حاصل از ارزیابی بیان ژن رشد در تیمارهای مختلف.

حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد

سطح بیان در گروه شاهد بود و تیمارهای مختلف اختلافشان در سطح معنی‌داری با شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$). با افزایش سطح استفاده از سین‌بیوتیک، پروبیوتیک و پریبیوتیک در جیره به ترتیب افزایش سطح بیان در ژن IGF مشاهده شد.

شکل ۲ بیانگر نتایج به‌دست آمده از بیان نسبی ژن IGF تحت تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک، پریبیوتیک و سین‌بیوتیک در جیره می‌باشد. بیان ژن IGF نیز الگویی مشابه ژن رشد را تیمارهای مختلف نشان داد. بالاترین سطح بیان این ژن در تیمار ۸ و کم‌ترین



شکل ۲- نتایج حاصل از ارزیابی بیان ژن IGF.

حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری می‌باشد

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش تغییرات مشاهده شده بین تیمارهای مختلف در شاخص‌های رشد نشان داد که اضافه کردن ترکیب ۲ درصد پکتین و 10^8 cfu g⁻¹ *L. plantarum* به جیره غذایی فیل‌ماهی منجر به افزایش معنی‌دار در برخی پارامترهای رشد و بهبود ضریب تبدیل غذایی شد. اگرچه استفاده از پکتین و *L. plantarum* به صورت منفرد نیز بهبود عملکرد رشد را به دنبال داشت اما مطلوب‌ترین نتیجه در تیمار سین‌بیوتیک مشاهده شد.

هدف نهایی آبی‌پروری رسیدن به رشد سریع و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌باشد. از این رو برای رسیدن به این هدف استفاده از پروبیوتیک‌ها و پریبیوتیک‌ها در رژیم غذایی آبزیان مورد توجه بسیاری از پرورش‌دهندگان قرار گرفته است. در مطالعه‌ای که از پکتین پوست پرتغال در جیره ماهی تیلاپای نیل استفاده گردید اثر مثبت این ماد بر فاکتورهای رشد گزارش شد (۱۴). هم‌چنین پژوهش‌گران دیگری نیز اثرات سودمند استفاده از پکتین را در جیره آبزیان تأیید کردند (۱۵).

افزایش رشد قابل‌ملاحظه در نتیجه استفاده از پریبیوتیک‌ها در جیره گونه‌های مختلف ماهی در مطالعات متعددی بررسی شده است. طی گزارشی استفاده از پریبیوتیک گالاکتوالیگوساکارید باعث افزایش فاکتورهای رشد در ماهی سی‌باس شد (۱۶) در مطالعه‌ای دیگر که بر روی هیبرید بایری و اسپچنکی انجام شد، نتایج نشان دادند که استفاده از پریبیوتیک رافینوز در جیره باعث بهبود عملکرد رشد می‌شود (۱۷) که همگی هم‌راستا با نتایج این پژوهش می‌باشند. بهبود عملکرد رشد حاصل از مصرف پکتین می‌تواند باعث افزایش جمعیت باکتری‌های مفید روده شود و در نتیجه بهبود عملکرد هضم را به دنبال داشته باشد (۱۸). باکتری‌های موجود در روده قادرند از طریق تخمیر پکتین خواص پریبیوتیکی آن را آزاد کنند

که منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های هضمی از جمله آمیلاز، لیپاز و پروتئاز شده (۱۹) و این امر افزایش اشتها، تولید ویتامین‌ها، حذف ترکیبات غیرقابل هضم و بهبود ساختار روده و افزایش جذب را به دنبال دارد (۲۰). هم‌چنین پکتین سرشار از ترکیبات زیست‌فعال می‌باشد که می‌تواند رشد را افزایش دهند (۲۱).

پروبیوتیک‌ها از طریق فعالیت‌های متابولیکی خود می‌توانند تأثیرات مثبتی را بر عملکرد رشد ماهیان داشته باشند. گزارش‌های متعددی بیانگر عملکرد مثبت باکتری‌های اسیدلاکتیک بر رشد است. استفاده از 10^8 cfu g⁻¹ لاکتوباسیلوس پلانناروم در جیره ماهی تیلاپای نیل باعث بهبود عملکرد رشد شد (۲۲) که هم‌راستا با نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌باشد هم‌چنین افزایش فاکتورهای رشد در نتیجه استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانناروم در جیره ماهی هامور گزارش شد (۲۳). طی گزارشی مشخص شد که افزودن سطوح مختلف ساکارومایسس سرویزیا به جیره بچه‌فیل‌ماهیان اثرات معنی‌داری بر شاخص‌های رشد بود و موجب افزایش معنی‌داری در وزن ماهیان گردید (۲۴). نتایج این مطالعه نیز افزایش مثبت و معنی‌دار استفاده از لاکتوباسیلوس پلانناروم را بر فاکتورهای رشد فیل‌ماهی نشان می‌دهد. پروبیوتیک‌ها هنگام ورود به روده میزبان به سطح روده متصل می‌شوند و از کربوهیدرات‌های موجود در محیط روده برای رشد و تولید آنزیم‌های هضم‌کننده استفاده می‌کنند این آنزیم‌ها از طریق هضم مواد آلی و پروتئین‌ها سبب افزایش رشد در میزبان می‌شوند هم‌چنین پروبیوتیک‌ها از طریق افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز باعث تحریک، توسعه و رشد پرزهای سطح غشای انتروسیت روده می‌شوند که این امر منجر به افزایش جذب کربوهیدرات‌ها و لیپیدها شده و افزایش وزن بیش‌تر را به دنبال دارد (۲۵).

است (۳۱). در این پژوهش سطح بیان GH و IGF تحت تأثیر غذای حاوی پکتین و لاکتوباسیلوس پلانناروم به مقدار قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. ارتباط بین سیستم عصبی مرکزی و باکتری‌هایی که در روده زیست می‌کنند هنوز مشخص نیست. اگر باکتری‌ها قادر به کنترل بیان IGF و رسپتور GHR-I باشند، هورمون‌های رشد و هورمون‌های استروئیدی می‌توانند از طریق میانجیگری دسته‌ای از سیگنال‌ها افزایش یابند. هم‌چنین مطالعات نشان دادند که افزایش سطح گلیکولیز در سلول که از طریق دهیدروژنه شدن گلوکز ۶ فسفات (G6PD) به وجود می‌آید، نشان‌دهنده مصرف انرژی توسط ماهی جهت افزایش رشد می‌باشد که میزان G6PD در بافت‌های کبد و ماهیچه تیمارهایی که از جیره حاوی پروبیوتیک و پروبیوتیک استفاده کرده بودند افزایش معنی‌داری را نشان داد (۳۲). نتایج مشابه با این پژوهش را روی ماهی تیلاپیا که با لاکتوباسیلوس پلانناروم و بتاگلوکان تغذیه شده بود گزارش شد (۳۳).

از این پژوهش می‌توان چنین نتیجه گرفت که لاکتوباسیلوس پلانناروم همراه با پکتین توانسته جمعیت غالب فلور باکتریایی روده فیل ماهی را تشکیل دهد و از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و افزایش هضم و جذب بهبود عملکرد رشد را به دنبال داشته باشد هم‌چنین با تحت تأثیر قرار دادن قابل ملاحظه میزان بیان ژن‌های GH و IGF تأثیر ۲ درصد پکتین و 10^8 cfu g^{-1} لاکتوباسیلوس پلانناروم به صورت ترکیبی، در سطح ملکولی نیز تأیید می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله نهایت تشکر و قدردانی خود را از همه اساتید و پرسنل دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان دارند.

اگرچه استفاده از پروبیوتیک و پروبیوتیک به صورت مجزا دارای اثرات سودمندی بر رشد ماهی می‌باشد، اخیراً استفاده از مجموع این دو مکمل در جیره تحت عنوان سین‌بیوتیک بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته و می‌تواند به مراتب اثرات مطلوب‌تری را بر عملکرد رشد ماهی داشته باشد. در این پژوهش نیز بیش‌ترین افزایش رشد و کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با ترکیب پکتین و لاکتوباسیلوس پلانناروم بود که با سایر تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. با توجه به مطالب گفته شده می‌توان چنین استنباط کرد که باکتری‌های موجود در سین‌بیوتیک تحت تأثیر استفاده از پکتین در رقابت با میکروفلور روده پیروز شده و موفق به تشکیل کلنی مؤثر می‌شوند و از این طریق باعث افزایش بازده استفاده از پروتئین‌های موجود در جیره غذایی فیل ماهی شده و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و تریپسین را افزایش می‌دهند که در نهایت رشد نیز افزایش می‌یابد. هم‌راستا با این نتایج گزارش‌های متعدد دیگری نیز، تأثیر مثبت استفاده از سین‌بیوتیک را به ترتیب در جیره ماهیان تیلاپیا قرمز، میگو و تیلاپیا قرم و خاویارز به اثبات رساندند (۲۶، ۲۷، ۲۸).

ارتباط پیچیده‌ای بین GH و IGF وجود دارد که می‌تواند نقش مهمی را در تحریک رشد ایفا کند. سطوح GH موجود در پلاسما باعث افزایش ترشح IGF در کبد می‌شود که این امر ارتباط مثبتی با میزان نرخ رشد دارد (۲۹). IGF هورمونی مهم با عملکردهای بیولوژیک متفاوت از جمله تنظیم متابولیسم سلولی، تسریع رشد سلول، تقسیم و تمایز سلول، توسعه جنین، تنظیم رشد و فشار اسمزی می‌باشد (۳۰). میزان بیان IGF تحت تأثیر عواملی هم‌چون نوع بافت، تغذیه و استرس‌های محیطی متغیر

منابع

1. Mohseni, M., Pourali, H. R., Kazrmi, R., & Bai, S. C. (2013). Evaluation of the optimum dietary protein level for the maximum growth of juvenile beluga: *Huso huso* L. 1758. *Aquaculture research*. 45, 1832-1841.
2. Harikrishnan, R., Kim, M. C., Kim, J. S., Balasundaram, C., & Heo, M. S. (2011). Probiotics and herbal mixtures enhance the growth, blood constituents, and non-specific immune response in *Paralichthys olivaceus* against *Streptococcus parauberis*. *Fish Shellfish Immunol*. 31, 310-317.
3. Gatesoupe, F. J. (1999). The use of probiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture*. 180, 147-165.
4. Mahious, A. S., & Ollevier, F. (2005). Probiotics and prebiotics in aquaculture: review. 1st regional workshop on techniques for enrichment of live food for use in larviculture. AAARC. Pp: 17-26.
5. Manning, T. S., & Gibson, G. R. (2004). Prebiotics. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*. 18, 287-298.
6. Wang, T., Cheng, Y., Chen, X., Liu, Z., & Long, X. (2017). Effects of small peptides, probiotics, prebiotics, and synbiotics on growth performance, digestive enzymes, and oxidative stress in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, juveniles reared in artificial seawater. *Chin. J. Oceanol. Limno*. 35, 89-97.
7. Azevedo, R. V. J. C., Fosse-Filho, S. L., Pereira, D. R., & Vidal-Júnior, M. V. (2016). Prebiotic, probiotic and synbiotic to *Trichogaster leeri* larvae. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 68, 795-804.
8. Nguyen, N., Onoda, S., Khanh, T. V., Hai, P. D., Trung, N. T., & Koshio, S. (2011). Evaluation of dietary heat-killed *Lactobacillus plantarum* strain L-137 supplementation on growth performance, immunity and stress resistance of Nile tilapia: *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 498, 371-379.
9. Li, Y., Liu, H., Dai, X., Li, J., & Ding, F. (2018). Effects of dietary inulin and mannan oligosaccharide on immune related genes expression and disease resistance of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*. 76, 78-92.
10. Soares, M. P., Oliviera, F. C., Cardoso, I. L., Urbianty, E. C., Campos, C. M., & Hisano, H. (2018). Glucan-MOS® improved growth and innate immunity in pacu stressed and experimentally infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*. 73, 133-140.
11. Nan, B., Min, Gu., Xiaojie, Xu., Bingying, Xu., & Ashild, K. (2017). Protective effects of mannan oligosaccharides on turbot *Scophthalmus maximus* suffering from soy enteropathy. *Aquaculture*. 476, 141-151.
12. Bekcan, S., Dogankaya, L., & Cakirogullari, G. C. (2006). Growth and body composition of European catfish *Silurus glanis*. fed diets containing different percentages of protein. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*. 58, 137-142.
13. Hevroy, E., Espe, M., Waagbo, R., Sandnes, K., Ruud, M., & HEMR, G. I. (2005). Nutrient utilization in Atlantic salmon: *Salmo salar* L. fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. *Aquaculture Nutrition*. 11, 301-313.
14. Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Naraballoh, W., Jaturasitha, S., Tongsiri, S., Chitmanat, C., et al. (2019). Dietary inclusion of Orange peels derived pectin and *Lactobacillus plantarum* for Nile tilapia: *Oreochromis niloticus* cultured under indoor biofloc systems. *Aquaculture*. 508, 98-105.
15. Ho, Y. Y., Lin, C. M., & Wu, M. C. (2017). Evaluation of the prebiotic effects of citrus pectin hydrolysate, *Journal of Food and Drug Analysis*. 25, 550-558.
16. Rahimnejad, S., Guardiola, F. A., Leclercq, E., Angeles Esteban, M., Castex, M., Sotoudeh, E., & Lee, S. M. (2018). Effects of dietary supplementation with *Pediococcus acidilactici* MA18/5M, galactooligosaccharide and their synbiotic on growth, innate immunity and disease resistance of rockfish: *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture*. 482, 36-44.
17. Xu, G., Xing, W., Li, T., Ma, Z., Liu, C., Jiang, N., & Luo, L. (2018). Effects of 570 dietary raffinose on growth, non-specific immunity, intestinal morphology and microbiome of juvenile

- hybrid sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt ♀ × *A. schrenckii* Brandt ♂), *Fish & Shellfish Immunology*. 72, 237-246.
18. Wang, An. R., Ran, C., Ringø, E., & Zhou Zhi, G. (2017). Progress in fish gastrointestinal microbiota research, *Reviews in Aquaculture*. 32, 235-247.
 19. Dawood, M. A. O., & Koshio, S. (2016). Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: A review. *Aquaculture*. 454, 243-251.
 20. Irianto, A., & Austin, B. (2002). Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*. 25, 649-654.
 21. Oluremi, O., Ngi, J., & Andrew, I. (2007). Phytonutrients in citrus fruit peel meal and nutritional implication for livestock production. *Livestock Research for Rural Development*. 19, 1-5.
 22. Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Dawood, M. A. O., Chitmanat, C., & Tayyamat, K. (2017). Effects of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and *Lactobacillus plantarum* on mucosal, serum immunology and growth performance of Nile tilapia: *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*. 70, 87-94.
 23. Son, V. M., Chang, C. C., Wu, M. C., Guu, Y. K., Chiu, C. H., & Cheng, W. (2009). Dietary administration of the probiotic, *Lactobacillus plantarum*, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology*. 26, 691-698.
 24. Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A. R., Mojazi Amiri, B., Khoshbavar Rostami, H. A., Poor Amini, M., & Darvish Bastami, K. (2011). The probiotic effects of dietary inactive yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* on growth factors, survival, body composition and intestinal microbiota of juvenile Beluga *Huso huso*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 19, 55-66.
 25. Lara-Flores, M. (2011). The use of probiotic in aquaculture: an overview. *International Research Journal of Microbiology*. 2, 471-478.
 26. Sewaka, M., Trullas, C., Chotiko, A., Rodkhum, C., Chansue, N., Boonanuntanasarn, S., & Pirarat, N. (2019). Efficacy of synbiotic Jerusalem artichoke and *Lactobacillus rhamnosus* GG-supplemented diets on growth performance, serum biochemical parameters, intestinal morphology, immune parameters and protection against *Aeromonas veronii* in juvenile red tilapia: *Oreochromis spp.* *Fish & Shellfish Immunology*. 86, 260-268.
 27. Hu, X., Cao, Y., Wen, G., Zhang, X., Xu, Y., Xu, W., Xu, Y., & Li, Z. (2017). Effect of combined use of *Bacillus* and molasses on microbial communities in shrimp cultural enclosure systems. *Aquaculture Research*. 48, 2691-2705.
 28. Hoseinifar, S. H., Ringø, E., Shenavar Masouleh, A., & Esteban, M. A. (2016). Probiotic, prebiotic and synbiotic supplements in sturgeon aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*. 8, 89-102.
 29. Duan, C., Duguay, S. J., & Plisetskaya, E. M. (1993). Insulin-like growth factor I (IGF-I) mRNA expression in Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*: tissue distribution and effects of growth hormone/prolactin family proteins. *Fish Physiol. Biochem.* 11, 371-379.
 30. Zheng, K. D., Chen, X. C., & Li, Y. W. (2007). Molecular cloning, sequence analysis and tissue expression of insulin-like growth factor-I in Chinese Sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. *Chin. J. Zool.* 42, 39-45. [In China, with English abstract]
 31. Deng, L., Zhang, W. M., Lin, H. R., & Cheng, C. H. K. (2004). Effects of food deprivation on expression of growth hormone receptor and proximate composition in liver of black seabream *Acanthopagrus schlegeli*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 137, 421-432.
 32. Azaza, M. S., Assad, A., Maghrbi, W., & El-Cafsi, M. (2013). The effects of rearing density on growth, size heterogeneity and inter-individual variation of feed intake in monosex male Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Animal*. 7, 1865-1874.
 33. Dawood, M.A.O., Eweedah, N.M., Moustafa, E.M., & Shahin, M.G. (2019). Synbiotic Effects of *Aspergillus oryzae* and β -Glucan on Growth and Oxidative and Immune Responses of Nile Tilapia., *Oreochromis niloticus*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. Pp: 1-12.