اثرات استفاده مجزا و تلفیقی پروبیوتیک (*Lactobacillus casei*) و پربیوتیک (A- MAX) درجیره غذایی بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد (GH و IGF1) در بچه‌ماهی کپورمعمولی (*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*)، پربیوتیک AMAX و تلفیق پروبیوتیک و پربیوتیک بر بیان ژن هورمون رشد (GH) و فاکتور رشد شبه انسولینی (IGFI) درماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار گرفت. بدین‌منظور تعداد۱۸۰ قطعه ماهی کپور با میانگین وزنی ۰/۳۵±۲۳/۷ گرم به‌مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی حاوی $CFU/gr10^7$ (لاکتوباسیلوس کازئی)، ۰/۱٪ پربیوتیک AMAX و ترکیب پروبیوتیک و پربیوتیک و جیره شاهد تغذیه شدند. در پایان دوره، ازبافت کبد و مغز نمونه‌برداری شد و استخراج RNA انجام گرفت، برای سنتز cDNA از کیت Suprime Script RTase استفاده شد و بیان ژن‌های مذکوربا استفاده از Real time PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد درگروه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک، پربیوتیک و تلفیق پروبیوتیک وپربیوتیک میزان بیان ژن IGF1 به‌ترتیب ٥/٩٤، ٥/٦٨، ٧/٨٧ برابرگروه شاهد بود. هم‌چنین بیان ژن GH به‌ترتیب ۹/۲۵، ۸/۸۸، ۱۷/۳۵ برابر گروه شاهد بود. اختلاف معنی‌داری در هر دو ژن تغذیه شده با تلفیق پروبیوتیک وپربیوتیک با تیمارهای مجزای پروبیوتیک و پربیوتیک مشاهده شد (P<۰/۰٥). نتایج این مطالعه نشان‌دهنده اثرات مفید لاکتوباسیلوس کازئی و پربیوتیک AMAX به‌ویژه به‌صورت تلفیقی بر شاخص‌های رشد ماهی کپور می‌باشد (P<۰/۰٥).

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

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: ali_shabany@yahoo.com

مقدمه

صنعت آبزی‌پروری یکی‌از منابع اصلی تأمین غذای انسان می‌باشد. این صنعت علی‌رغم رشد قابل توجه همواره با مشکلاتی رو به‌رو بوده است و درحال حاضر چالش‌عمده، بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده برای بهینه‌سازی رشد و ارتقاء سلامت ماهیان می‌باشد (محمودیان و همکاران، ۱۳۹۴؛ باعثی و همکاران، ۱۳۹۵). استفاده از مواد افزودنی یکی از روش‌های متداول به‌منظور ارتقاء شاخص‌های رشد، میزان بقاء وکارایی غذا درماهیان پرورشی می‌باشد(ایمان‌پور و همکاران، ۱۳۹۴). ازجمله‌این ترکیبات می‌توان به‌پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و سین‌بیوتیک‌ها اشاره کرد. در دهه‌های اخیر به‌دلیل افزایش جمعیت و رویکرد عمومی، به مصرف غذاهای سالم مصرف آبزیان در جهان در حال افزایش است. با توجه به این‌که در مراکز پرورش آبزیان 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 پروبیوتیک‌ها، پربیوتیک‌ها، گیاهان و عصاره‌های گیاهی است. پروبیوتیک‌ها سلول‌های میکروبی هستند که‌از طریق تولید موادی نظیر ترکیبات بازدارنده، هم‌چنین رقابت برسر مواد شیمیایی و مکان‌های اتصال و تحریک و تقویت سیستم ایمنی باعث بهبود وضعیت سلامتی و رشد میزبان می‌شود (Andani. و همکاران، ۲۰۱۲). پربیوتی‌ها‌ازجمله‌مکمل‌های‌مورداستفاده‌درآبزیان هستند که‌بابه‌سازی فلور باکتریایی روده آن‌ها موجب بهبود هضم‌و جذب‌غذا و متعاقب آن بهبود رشد و تغذیه می‌شوند. تحقیقات متعددی در رابطه با استفاده از پربیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها در رابطه با رشد آبزیان صورت گرفته است. Hosseinifar و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند افزودن پربیوتیک الیگوفروکتوز به جیره فیل‌ماهی (*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 پربیوتیک گالاکتوالیگوساکارید (۰، ۱ و ۲ درصد)را در جیره غذایی بچه‌ماهی 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 پربیوتیک مذبور به‌طور معنی‌داری باعث بهبود عملکرد رشد می‌گردد. با این‌حال تغذیه با پربیوتیک تأثیری بر ترکیب‌لاشه و تعداد‌کل باکتری‌های روده نداشت. اگرچه افزایش معنی‌دار تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در ماهیان تغذیه شده با سطح دودرصد مشاهده گردید. باعثی و همکاران (۱۳۹۵) تأثیر لاکتوباسیل‌های پروبیوتیکی را در ماهی کپورمعمولی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که تیمار $10^{6} CFUg^{-1}$ پروبیوتیک دارای بالاترین نرخ رشد ویژه، وزن نهایی و ضریب کارایی پروتئین بود. اکرمی و همکاران (۱۳۸۸) اثرالیگوساکاریدرا در بچه‌ماهی 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 شیربت می‌شود. Salamatdoustnobar و همکاران (۲۰۱۱) تأثیرات سطوح مختلف ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ گرم در کیلوگرم پربیوتیک A-max را به شاخص‌های‌رشد و تغذیه بچه‌ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorihynchus mykiss*) موردبررسی 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) تاثیر مانان الیگوساکارید در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، Sudo و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر سطوح‌مختلف مانان‌الیگوساکارید بر روی ماهیان‌جوان پرورشی تیلاپیا (*oreochromis niloticus*)، Dimitroglo و همکاران (۲۰۱۰) اثر سطوح متفاوت پری‌بیوتیک مانان‌الیگوساکارید در گونه سیم دریایی (*Sparus aurata*) را مورد ارزیابی قراردادند. Cuneyt suze و همکاران (۲۰۰۸) اثر باکتری لاکتوباسیلوس کازئی به‌عنوان پروبیوتیک را در لارو ماهی قزل‌آلا بررسی کردند و تأثیرات مثبتی بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی مشاهده شد. از آن‌جایی‌که در زمینه به‌کارگیری باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی، پری‌بیوتیک A-MAX و ترکیب لاکتوباسیلوس کازئی A-MAX در جیره غذایی بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد (IGF1 ,GH) در ماهی‌کپورمعمولی انجام نشده است، بنابراین مطالعه حاضر باهدف بررسی پارامترهای مذکور در پذیرفت.

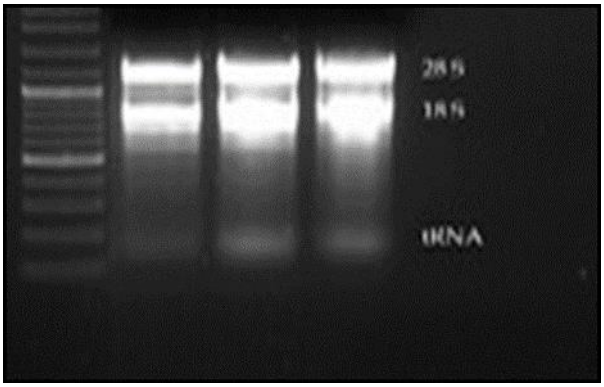
مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز ۱۳۹۶ در مرکز آبزی‌پروری 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 حمام‌نمک ۲٪ در ۱۲ مخزن، با میانگین وزنی ۰/۳۵±۲۳/۷ به‌صورت تصادفی در چهار تیمار و ۳ تکرار، هر تکرار (تعداد ۱۵ عدد ماهی) در هر مخزن قرارداده‌شدند. دراین آزمایش در طول دوره پرورش میانگین دمای آب ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد، pH ۰/۱۵±۷/۹ و میانگین اکسیژن ۰/۲±۷ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب با دماسنج، pH متر و اکسیژن‌متر اندازه‌گیری شد. در این آزمایش چهار تیمار با سطوح مختلف صفر (گروه شاهد)، 10^{7} *CFU/mL* پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی، ۰/۱ درصد پری‌بیوتیک آماکس و ترکیب لاکتوباسیلوس کازئی (10^{7}*CFU/mL*) وای‌ماکس (۰/۱ درصد) (صفری و همکاران، ۱۳۹۵؛ صابریان‌جویباری و همکاران، ۱۳۹۶) تهیّه می‌شود. برای هر تیمار، ۳ تکرار درنظر گرفته شده است. مواد تشکیل

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 استخراج‌شده 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 هموژن شده با ازت مایع با استفاده از بیوزول وطبق دستورالعمل شرکت سازنده (Biozol-Bioflux-Bioer) استخراج شد. نتایج کیفی RNA استخراج شده از مغز ماهی کپور تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پروبیوتیک و پربیوتیک را در دو باند ۱۸S RNA و ۲۸Sرا با وضوح بالا نشان داد.



شکل۱: کیفیت RNA استخراج شده از مغز ماهی کپور روی ژل آگارز ۱/۵٪ و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید. در نمونه‌های استخراج شده دو باند متعلق به ۱۸S و ۲۸S می‌باشند.

سنتز cDNA: سنتز cDNA با استفاده ازکیت سنتز cDNA (Suprime Script RTase)(جینت‌بایو-کره)وطبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. ۵ میکرولیتر از RNA که قبلاً آماده شده به همراه ۱ میکرولیتر آغازگر الیگو به‌تیوپ‌های جدید اضافه‌شدو با آب‌عاری از نوکلئاز به حجم ۱۰ میکرولیتر رسید. سپس بر روی بلوک حرارتی در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت 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. درنهایت با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶۰ دقیقه و ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد و سپس محلول حاوی cDNA به حجم ۲۰ میکرولیتر به دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

واکنش Real time PCR: واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از کیت سایبر شرکت بیوپارس (دانشگاه‌علوم‌کشاورزی‌ومنابع طبیعی) در دستگاه IQ5 شرکت (BIO-RAD.USA) در ۴ تکرار تکنیکی در حجم ۲۰میکرولیتر با استفاده از ۱۰ میکرولیتر بافر سایبرگیرین ۱ میکرولیتر آغازگر پیشرو ژن‌های هدف (GHو IGF1) ، ۲/۸ میکرولیتر آب مقطر، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم تگ پلیمراز(۵U)و۵میکرولیتر cDNA رقیق‌شده(۲ نانوگرم در میکرولیتر)در دمای‌اتصال ۵۸درجه‌سانتی‌گراد انجام‌شد. کارایی پرایمرهای مذکور با استفاده از منحنی استاندارد رسم شده‌برای‌غلظت‌های سریالی تعیین گردید (صفری و همکاران، ۱۳۹۵) (جدول ۱).

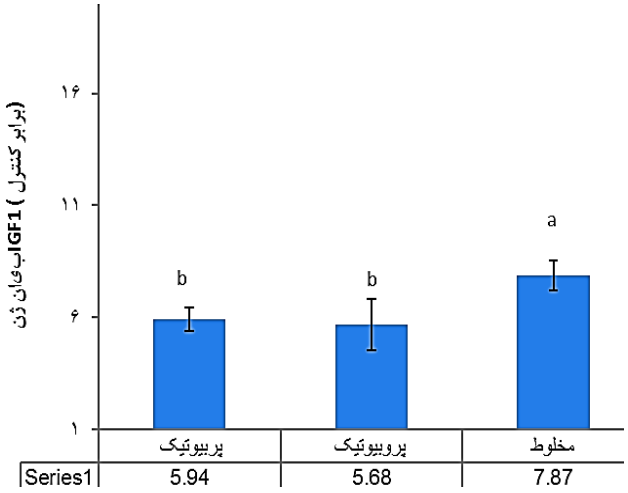
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های مربوط به بیان نسبی ژن با استفاده از فرمول: $2^{-\Delta\Delta CT}$ برابر است با ΔCT ژن هدف منهای ΔCT کالیبراتور، آنالیز وسپس نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولوموگروف اسمیرنوف تست‌شد.سپس توسط آنالیزواریانس یک‌طرفه درسطح اطمینان ۹۵٪ تست شدند. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای‌دانکن‌استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار نمایش داده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL۲۰۱۰ ترسیم شد.

جدول ۱: ویژگی‌های آغازگرهای استفاده شده در این مطالعه

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

نتایج

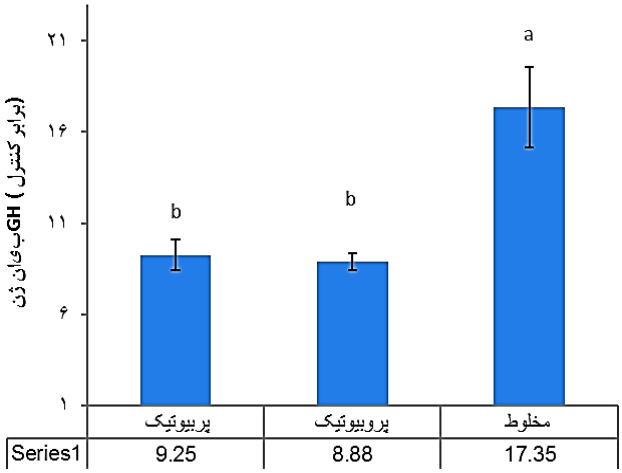
ارزیابی بیان ژن IGF1 افزایش بیان این ژن را در گروه‌های تغذیه شده با پربیوتیک،پروبیوتیک و مخلوط پربیوتیک و پروبیوتیک نسبت به شاهد نشان داد. هم‌چنین در گروه تغذیه شده با جیره حاوی پربیوتیک و پروبیوتیک و مخلوط پربیوتیک و پروبیوتیک میزان بیان ژنIGFI به‌ترتیب ۵/۹۴، ۵/۶۸ و۷/۸۷ برابر گروه شاهد بود. اختلاف معنی‌داری در گروه تغذیه شده با مخلوط پروبیوتیک و پربیوتیک با تیمارهای مجزای پربیوتیک و پروبیوتیک مشاهده شد ($P<0/05$).



شکل ۲: تغییرات بیان نسبی ژن IGF1- به بتااکتین در ماهی کپور تغذیه شده با پری‌بیوتیک A-MAX، پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و تلفیق پری‌بیوتیک A-MAX وپروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین تیمارها می‌باشد.

بیان ژن GH نیز افزایش معنی‌داری را در گروه‌های تغذیه شده با پربیوتیک و پروبیوتیک و مخلوط پربیوتیک و پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). هم‌چنین در گروه تغذیه شده با جیره حاوی پربیوتیک، پروبیوتیک و مخلوط پربیوتیک و پروبیوتیک میزان بیان ژن GH به‌ترتیب ۹/۲۵، ۸/۸۸ و ۱۷/۳۵ برابر گروه شاهد بود. اختلاف معنی‌داری در بین این ژن در گروه تغذیه شده با مخلوط پربیوتیک و پروبیوتیک با گروه‌های تغذیه شده با تیمارهای مجزای هریک از این دو مشاهده شد (P<۰/۰۵).



شکل ۳: تغییرات بیان نسبی ژن GH به بتااکتین در ماهی کپور تغذیه‌شده با پری بیوتیک A-MAX، پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و تلفیق پربیوتیک A-MAX وپروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین تیمارها می‌باشد.

بحث

گسترش آبزی‌پروری در طی ۱۰ سال گذشته، آبزیان 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 ازجمله کاهش اشتها، کاهش بازده غذا، اختلال در رشد و تلفات می‌باشند (Alderman، ۲۰۰۲)، بنابراین پیشگیری و کنترل بیماری‌ها امری ضروری است. از طرفی تغذیه یک جنبه مهم در آبزی‌پروری می‌باشد که پرورش‌دهندگان باید توجه خاصی به آن نمایند زیرا بخش زیادی از هزینه‌های پرورش را به‌خود اختصاص می‌دهد. در پرورش آبزیان هزینه غذا به‌طور معمول ۳۰ تا ۶۰ درصد کل هزینه لازم برای سیستم‌های پرورش ماهی و سخت‌پوستان را تشکیل می‌دهد (افشارمازندران، ۱۳۸۹). ازاین‌رو 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 آبزیان 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 انجام‌گرفته است. نتایج‌مطالعه حاضر نشان می‌دهد ژن‌های مذکور افزایش معنی‌دار بیان هر دو ژن (IGF1 و GH) را در ماهیان تغذیه شده با پربیوتیک، لاکتو باسیلوس کازئی و هم‌چنین ترکیب پروبیوتیک و پربیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد را نشان داد (P<۰/۰۵) و این مطالعه نشان‌دهنده اثرات مفیدلاکتوباسیلوس کازئی و پربیوتیک AMAXبه‌ویژه به‌صورت ترکیبی بر شاخص‌های رشد وبیان ژن‌های مرتبط بارشد ماهی کپور می‌باشد. با بهبود عملکرد رشد توسط پروبیوتیک‌ها در مطالعات مختلف، تولید ویتامین‌ها، تولید ترکیبات مسمومیت‌زدا، تجزیه ذرات غیرقابل‌هضم، تحریک اشتها نسبت داده شده است. هم‌چنین مصرف پروبیوتیک‌ها موجب محافظت در برابر پاتوژن‌ها یا رقابت با آن‌ها درمحل‌اتصال 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 شاخص‌های‌رشد و ایمنی با استفاده از پربیوتیک‌ها درمطالعات مختلف دررژیم‌غذایی،افزایش جذب گلوکز،افزایش‌جذب‌مواد معدنی (کلسیم، منیزیوم 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

را به‌همراه دارد. در تیمار تلفیقی افزاش بیان ژن‌های رشد در مقایسه با دو تیمار مجزا را می‌توان به اثر هم افزایی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و پربیوتیک A-MAX نسبت داد که پربیوتیک ماده غذایی مورد نیاز پروبیوتیک را در دستگاه گوارش تامین می‌کند و باعث تنظیم فلور باکتریایی روده می‌شود، بدین‌ترتیب اثرتلفیقی پروبیوتیک و پربیوتیک اثر افزایشی بیش‌تری را در رشد داشته است. IGFI و GH نقش مهمی در تنظیم تعادل رشد در همه مهره‌داران دارند. براساس گزارش Duan و Plisetskaya (۱۹۹۳) سطوح IGF-I mRNA کبدی در بسیاری از گونه‌های استخوانی به‌وضعیت تغذیه‌ای بستگی دارد. اساساً تولید هورمون رشد در هیپوفیز و ترشح درون‌ریز آن، طیف وسیعی از فرایندهای مربوط به تقسیمات سلولی را تحریک می‌نمایدکه این عملکرد آن‌ها به‌واسطه فاکتورهای رشد شبه انسولینی (IGFs) صورت می‌گیرد (Nelson و Van Der. Kraak، ۲۰۱۰). بنابراین، تولید IGF-I وابسته به تولید GH و رهاسازی آن است که در نهایت، از طریق محور مغزی هیپوتالاموسی و وضعیت تغذیه‌ای (مصرف غذا و جذب مواد مغذی) تحت کنترل قرار می‌گیرد (Bekcan و همکاران، ۲۰۰۶). Carnevali و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی ماهی باس دریایی باعث افزایش بیان ژن IGFI نسبت به گروه شاهد شد. هم‌چنین Hassan و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که جیره حاوی سین‌بیوتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و مانان الیگوساکارید+فروکتو الیگوساکارید باعث افزایش بیان ژن IGFI ماهی تیلاپیای نیل شد. بررسی تاثیرات سطوح مختلف ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ گرم در کیلوگرم پری‌بیوتیک A-MAX را به شاخص‌های رشد و تغذیه بچه‌ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorihynchus mykiss*) نشان داد که افزودن ۰/۵ گرم پری‌بیوتیک A-MAX در هر کیلوگرم غذا منجر به بهبود معنی‌دار شرایط رشد و تغذیه این ماهیان شده است (Salamatdoustnobar و همکاران، ۲۰۱۱). اثرمانان الیگوساکارید در بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) موجب بهبود رشد و تغذیه این ماهیان شد (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۸). تاثیر مانان الیگوساکارید در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد و نتایج حاصل همراه با به‌سازی فلور باکتریایی روده آن‌ها موجب بهبود هضم و جذب غذا و متعاقب آن بهبود رشد و تغذیه می‌شوند (Staykov و همکاران، ۲۰۰۷). تاثیر مانان الیگوساکارید روی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان مورد بررسی قرارگرفت، نتایج حاصل شده نشان داد بهبود جیره‌های غذایی فرموله شده موجب افزایش بهینه‌سازی رشد و ارتقا سلامت ماهیان شده است (قبادی و همکاران، ۱۳۹۲). تاثیر سطوح مختلف مانان الیگوساکارید بر روی ماهیان جوان پرورشی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) موجب افزایش شاخص‌های رشد، بازماندگی و ترکیبات لاشه ماهیان شد (Sado و همکاران، ۲۰۰۸). اثر سطوح متفاوت پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید در گونه سیم 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 می‌کند (Dimitroglou و همکاران، ۲۰۱۰). استفاده از پری‌بیوتیک ای‌ماکس، شاخص‌های رشد لاروهای تاس‌ماهی ایرانی را بهبود بخشید. مکمل غذایی لاکتوباسیلوس کازئی در جیره غذایی موجب افزایش رشد ماهی شیربت می‌شود (Doos Ali Van و همکاران، ۲۰۱۴). در مطالعه‌ای که در مورد استفاده از پروبیوتیک تجاری ۱۱SpPdp بر روی رشد و بیان ژن رشد بر لارو ماهی کفشک سنگالی انجام دادند دریافتند که تجویز پروبیوتیک از اولین تغذیه خارجی سبب تأثیرات مثبتی بر رشد تک لاروی سنگال می‌شود با توجه به این‌که نمونه‌هایی که از این رژیم تغذیه شده‌اندوزن بیش‌تری و هم‌چنین افزایش غلظت کل پروتئین و فعالیت آلکالین فسفاتاز، پاسخ ایمنی اختصاصی. علاوه بر این، PCR در زمان واقعی تغییراتی را در بیان مجموعه‌ای از ژن‌های دخیل در توابع متابولیک مرکزی شامل ژن‌های مرتبط با رشد، ژن‌های کدگذاری پروتئازها (ازجمله چندآنزیم‌های گوارشی)، به‌طورکلی این نتایج از استفاده از ۱۱SpPdp در مراحل اول زندگی *S. senegalensis* به‌عنوان یک ابزار موثر با پتانسیل واضح برای بهره‌برداری در آبزی‌پروری حمایت می‌کند (Jurdo و همکاران، ۲۰۱۸). در مطالعه‌ای که برروی پروبیوتیک‌های *Bacillus* sp. AHG22 و *Alcaligenes* sp. AFG22 و Shewanella sp. AFG2 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 پروبیوتیک‌ها به‌طور معنی‌داری بالاتر از شاهد بود مقدار FCR به‌میزان قابل توجهی کاهش یافت (Asaduzzaman و همکاران، ۲۰۱۸). به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که به‌کارگیری پروبیوتیک و پری‌بیوتیک به‌صورت مجزا و ترکیبی باعث بهبود شاخص‌های رشد شده و می‌تواند به‌عنوان یک مکمل غذایی در جیره کپورماهیان مورداستفاده قرار گیرد.

منابع

۱. **افشارمازندران، ن.، ۱۳۸۹.** کتاب راهنمای عملی تغذیه و نهاده‌های غذایی و دارویی آبزیان در ایران. انتشارات نوربخش. ۲۱۶ صفحه.

۲. **اکرمی، ر.؛ ابراهیمی، ع.؛ شاملوفر، ف.م. و رازقی‌منصور، م.، ۱۳۹۳.** تأثیر پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت لاروی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در برابر استرس‌های محیطی. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی. دوره ۲، شماره ۳، صفحات ۲۹ تا ۴۲.

۳. **ایمان‌پور، م.ر.؛ روحی، ز.؛ سلاقی، ز.؛ بیک‌زاده، آ. و داودی‌پور، ع.ر.، ۱۳۹۴.** اثر پربیوتیک پریمالاک بر شاخص‌های رشد، پارامترهای

بیوشیمیایی خون، بازماندگی و مقاومت در برابر تنش شوری بچه ماهی کپورمعمولی دریایی. علوم و فنون شیلات. دوره ۴، شماره ۳، صفحات ۱۷ تا ۲۸.

۴. **باعثی، 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 آبزی‌پروری. 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-alfaو IL1b) در ماهی زبرا . طرح پژوهشی دانشکده شیلات و محیط زیست. ۷۰ صفحه.

۶. **خدابخش، ا. و قبادی، ش.، ۱۳۹۲.** تاثیر مخلوط پروبیوتیک الیگوساکارید(MOS)و بتا۱و۳گلوکان برشاخص‌های رشد، بازماندگی و ترکیب لاشه بچه‌ماهی کپورعلفخوار(*Ctenopharyngodon idella*). علوم تکثیر و آبزی‌پروری. سال ۱، شماره ۱، صفحات ۴۱ تا ۵۴.

۷. **صابریان‌جویباری، م.؛ قبادی، ش. و وطن‌دوست، ص.، ۱۳۹۵.** تاثیر سطوح مختلف پری‌بیوتیک A-MAX برشاخص‌های رشد، بازماندگی و ترکیبات لاشه در بچه‌ماهی کپورمعمولی. نشریه توسعه آبزی‌پروری، 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 انفرادی‌وترکیبی‌بررشدبچه‌ماهیان کپورمعمولی. 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-Zarzuela, 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 (*Acipencer persicus*) larvae via bioenrichment of *Daphnia magna*. AACL 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.

۱۶. **Chabrillón, 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 gryprus*. 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.1.; 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.; Moríñigo, M.Á. 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