اثرات استفاده مجزا و تلفیقی از نمک پروپیونات سدیم و پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* بر برخی فاکتورهای رشد و بیان برخی ژن‌های مرتبط با رشد در بچه‌ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*)

- **الهام کنعانی** *: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **علی شعبانی**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **رقیه صفری**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۸

چکیده

مطالعه حاضر اثر پروبیوتیک (*Pediococcus acidilactici*)، نمک پروپیونات سدیم و ترکیب پروبیوتیک و نمک پروپیونات سدیم بر رشد و میزان بیان ژن‌های GH و IGF-I در بچه‌ماهی کپورمعمولی را مورد بررسی قرار داد. بدین‌منظور ۱۴۲ قطعه بچه‌ماهی (با میانگین وزنی تقریبی ۱۴ گرم) به‌مدت هشت هفته به چهار تیمار صفر، ۰/۱ درصد پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدلاکتیکی، پروپیونات‌سدیم یک درصد، ترکیب پدیوکوکوس اسیدلاکتیکی ۰/۱ درصد و پروپیونات‌سدیم یک درصد، طبقه‌بندی و تغذیه شدند. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. در پایان دوره ماهیان زیست‌سنجی شده و بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. به‌طوری‌که بالاترین مقدار افزایش وزن بدن (۰/۴۷±۳۵/۵۳ گرم) و نرخ رشد ویژه (۰/۰۱±۳/۵) در تیمار سوم مشاهده شد ($p<0/05$). هم‌چنین پایین‌تر مقدار ضریب تبدیل غذایی (۰/۰۷±۱/۰۵درصد) در تیمار سوم مشاهده شد ($P<0/05$). بعد از نمونه‌برداری از بچه‌ماهیان مورد تحقیق در شرایط استریل، نتایج نشان داد که میزان بیان ژن GH در تیمار ترکیب پروبیوتیک و نمک پروپیونات سدیم اختلاف معنی‌داری را با دو تیمار دیگر داشتند ($P<0/05$). هم‌چنین بیان ژن IGF-I نیز در تیمار پروبیوتیک و پروپیونات سدیم تنها با تیمار پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$). با توجه به نتایج اثرات مفید *P. acidilactici*، نمک پروپیونات سدیم و ترکیب پروبیوتیک و نمک پروپیونات سدیم بر میزان بیان ژن‌های GH و IGF-I در بچه‌ماهی کپور کاملاً واضح می‌باشد و به‌نظر می‌رسد استفاده از ترکیب پروبیوتیک و نمک پروپیونات‌سدیم در غذای ماهیان کپورمعمولی می‌تواند در عملکرد رشد و بیان ژن‌های GH و IGF-I در این گونه تاثیرگذار باشد.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، رشد، ژن‌های GH و IGF1، نمک پروپیونات سدیم، ماهی کپور

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: elham_kanaani@yahoo.com

مقدمه

هدف نهایی در انواع مختلف فعالیت‌های آبزی‌پروری حداکثر سود دهی از طریق بهبود بازدهی تولید است که این مسئله در گرو بهبود میزان رشد، سیستم ایمنی و کیفیت لاشه در آبزیان است تأمین خوراک آبزی ۶۰-۴۰ درصد از هزینه‌های مربوط به تولید را در بر می‌گیرد، بنابراین در این بخش لازم است تا حد امکان از هدر رفت غذا جلوگیری کرد (ضیائی‌نژاد و همکاران، ۲۰۰۶). پروبیوتیک‌ها از اجزای مهم فلور میکرواورگانیسمی روده هستند که نقش مهمی در افزایش هضم و جذب مواد غذایی دارند. این میکرواورگانیسم‌ها با ترشح آنزیم‌های خارج سلولی مانند پروتئاز، آمیلاز و.. به‌هضم ترکیبات غیرقابل هضم در جیره کمک می‌کنند و با تولید متابولیت‌هایی همانند اسیدهای چرب زنجیره کوتاه (موجب افزایش رشد میکروویلی‌ها شده) و میزان جذب مواد غذایی را افزایش می‌دهد (Resende و همکاران، ۲۰۱۲؛ He و همکاران، ۲۰۱۰؛ Bagheri و همکاران، ۲۰۰۸). از سوی دیگر پروبیوتیک‌ها با بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی، تحرک اشتهای ماهی تولید ویتامین‌ها و قابلیت جذب مواد معدنی و عناصر کمیاب تأثیر مثبتی بر رشد دارند علاوه بر این پروبیوتیک‌ها از طریق رقابت برای دستیابی به مواد مغذی، تولید باکتریوسین‌ها مانع از ازدیاد باکتری‌های فرصت‌طلب در مجاری گوارش و محیط پرورشی آبزیان می‌شوند (Verschuere و همکاران، ۲۰۰۰) پروبیوتیک به چهار گروه عمده، باکتریایی، قارچی، جلبکی و مخمری تقسیم می‌شوند. پروبیوتیک پدیکوکوس به‌عنوان یک باکتری گرم‌مثبت اسید لاکتیکی، کاتالاز منفی بی‌هوازی شناخته شده است. این گونه می‌تواند محدوده وسیع اسیدیته را تحمل کند (Safari و Sang tash، ۲۰۱۳). خواص سلامت‌بخش پروبیوتیک‌ها و اثرات مفید آن‌ها بر روی بدن میزبان، با مصرف فراورده‌های پروبیوتیک همراه است. اگرچه، ارائه نتایج قطعی در مورد تمامی اثرات سلامت‌بخش این میکروارگانیسم‌ها به‌دلیل خطاهای تصادفی نظیر ثابت نبودن شرایط آزمایشگاهی و نیز نژادهای گوناگون باکتریایی، نیازمند شرایط پژوهشی دقیق‌تری می‌باشد. ازجمله عوامل دیگری که بر میزان رشد و بهبود سیستم ایمنی آبزیان تأثیر مثبت دارد اسیدهای آلی است. اسیدهای آلی اثرات بیش‌تری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها دارند. اسیدهای آلی یکی از انواع محرک‌های طبیعی می‌باشند که در ساختارشان دارای یک یا بیش از چند گروه کربوکسیل است. این اسیدها در طی فرآیند تخمیر میکروبی تولید می‌شوند. اسیدهای آلی و نمک‌هایشان اغلب برای محافظت و نگه‌داری مواد غذایی استفاده می‌شوند (Suryanarayana و همکاران، ۲۰۱۲؛ Kim و همکاران، ۲۰۰۵). اسیدهای آلی با حفظ pH مناسب دستگاه گوارش موجب بهبود قابلیت هضم پروتئین شده و با کاهش رقابت میکروبی برای مصرف مواد مغذی با میزبان موجب افزایش رشد آبزی می‌شوند از دیگر کاربردهای اسیدهای آلی در جیره جذب مواد معدنی است، لذا با توجه به وجود فسفر در آرد ماهی، جذب این ماده معدنی نقش مهمی در پرورش آبزی فراهم می‌کند (Suryanarayana و همکاران، ۲۰۱۲؛ Kim و همکاران، ۲۰۰۵). اسیدهای آلی در محیط روده که pH بالاتری دارد، تجزیه شده و موجب کاهش pH روده می‌شوند. با اسیدی شدن محیط روده سایر ملکول‌های اسید یونیزه نشده و به‌علت خاصیت چربی دوستی که دارند از دیواره باکتری عبور کرده و در محیط خنثی سیتوپلاسم باکتری یونیزه می‌شوند. پمپ هیدروژنی غشا باکتری برای حفظ هموستازی سلول با صرف انرژی پروتون را به خارج از سلول پمپ می‌کند و آنیون باقی‌مانده اثرات مخرب خود را بر ژنوم و اندامک‌های باکتری بر جای می‌گذارد (Cuvin-Aralar و همکاران، ۲۰۱۱؛ Hossain و همکاران، ۲۰۰۷). پروپیونات سدیم یک افزودنی غذایی متداول است که به‌طور صنعتی تولید می‌شود که از آن به عنوان نگه‌دارنده برای جلوگیری از کَپک‌زدن یا از بین بردن کَپک‌ها استفاده می‌شود. پروپیونات سدیم فرم نمکی اسید پروپیونیک است که یک اسید آلی است با فرمول شیمیایی Na(C2H5COO) که طی متابولیز اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب را در بدن تولید می‌کند (Eidelsburger، ۱۹۹۸). اثرات مثبت استفاده از اسیدهای آلی و نمک‌های آن در جیره غذایی و بهبود عملکرد رشد *Sciaenops ocellatus* (Castillo و همکاران، ۲۰۱۴)، *Oncorhynchus mykiss* (Pandey و همکاران، ۲۰۰۸)، *Litopenaeus vannamei* (Silva و همکاران، ۲۰۱۴)، *Oreochromis* sp. (Koh و همکاران، ۲۰۱۶) گزارش شده است. پروبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی هر دو باعث افزایش فعالیت روده و بهبود اکوسیستم استخرها می‌شوند تحقیقات زیادی گزارش داده‌اند که استفاده هم‌زمان این دو مکمل غذایی دارای اثرات هم‌افزایی مثبت خواهد بود (Kandikatla و Kondamudi، ۲۰۱۶؛ جافرنوده و همکاران، ۱۳۹۶). ماهی کپورمعمولی با نام علمی (*Cyprinus carpio*) از خانواده، Cyprinidae از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی در ایران است و به‌علت ویژگی‌های منحصر به‌فرد و صرفه اقتصادی آن در نقاط مختلف کشور پرورش داده می‌شود و در این مطالعه اثرات پروبیوتیک تجاری (*Pediococcus acidilactici*) و نمک پروپیونات‌سدیم بر تنظیم بیان ژن‌های رشد (GH و IGF-I) در بچه‌ماهی کپور مورد مطالعه قرار گرفت. هورمون رشد و میانجی‌های آن همانند انسولین از غده هیپوفیز ترشح می‌شود این هورمون به‌عنوان محرک در تولید IGF-I در کبد عمل می‌کند. IGF-I نقش مهمی در کنترل رشد ایفا می‌کند. مطالعات زیادی به کارکرد سوماتوژنیک GH و IGF-I به‌همراه واسطه‌های آن در رشد لارو و بچه‌ماهیان استخوانی پرداخته‌اند (Carnevali و همکاران، ۲۰۰۵؛ Biga و همکاران، ۲۰۰۵). بنابراین بررسی GH و

IGF-I به‌عنوان شاخص‌های مناسب در تخمین میزان رشد استفاده کرد علاوه بر این میزان سطح بیان IGF نشان‌دهنده ارتباط بین میزان رشد و تغذیه در گونه‌های مختلف است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ۱۴۲ قطعه بچه‌ماهی کپورمعمولی (باوزن تقریبی ۱۴ گرم) از یکی از مراکز تکثیر و پرورش کپورمعمولی در استان گلستان تهیه و به سالن آبزی پروری شهیدفضلی برآبادی دانشگاه علوم و کشاورزی گرگان انتقال یافتند. ماهیان بلافاصله با محلول ۳ درصد نمک به‌مدت دو هفته جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی و ضدعفونی در مقابل هرگونه آلودگی انگلی خارجی در مخازن ۱۰۰۰ لیتری نگه‌داری شده و پس از اتمام دوره سازش به‌صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. پرورش در حوضچه‌های ۳۰۰ لیتری از جنس پلی اتیلن و با تراکم ۳۳ قطعه در هر حوضچه صورت گرفت. پس از دو هفته آداپتاسیون، بچه‌ماهیان به‌صورت کاملاً تصادفی به چهار تیمار (هر تیمار دارای سه تکرار) تقسیم بندی شدند غذادهی به‌میزان ۳ درصد از وزن بدن دو بار در روز به‌مدت هشت هفته انجام شد. جهت تغذیه ماهیان از غذای تجاری به‌صورت پلت (GFT-1) محصول شرکت فرآدانه (شهرکرد، ایران) با میزان ۴۰ درصد پروتئین، ۶ درصد چربی، ۵ درصد فیبر، ۱۰ درصد خاکستر، ۱ درصد فسفر و ۸ درصد رطوبت استفاده شد.

تهیه جیره: پروپیوتیک پدیو کوکوس اسیدلاکتیکی از شرکت Takjen و پروپیونات سدیم از شرکت Sigma آلمان تهیه شدند. جیره غذایی پایه ابتدا با آب مقطر مخلوط گردیده و بعد از تبدیل شدن به‌صورت خمیر، چهار تیمار با سطوح مختلف صفر، ۰/۱ درصد پروبیوتیک پدیو کوکوس اسیدلاکتیکی، پروپیونات سدیم یک درصد، ترکیب پدیوکوکوس اسیدلاکتیکی ۰/۱ درصد و پروپیونات سدیم ۱ درصد تهیه شدند، به خمیر خوراک اضافه گردید. سپس با استفاده از چرخ گوشت صنعتی خوراک به‌صورت رشته تبدیل گردید. پلت‌های غذایی به‌مدت ۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و سپس بسته‌بندی، کدگذاری و تا زمان مصرف در ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. برای هر تیمار، ۳ تکرار درنظر گرفته شده است. در انتهای دوره نمونه‌برداری از ماهیان انجام و شاخص‌های رشد شامل موارد زیر اندازه‌گیری شد:

افزایش وزن بدن (Taokan و همکاران، ۲۰۰۶):

$$BWI = Wt2 - Wt1$$

Wt2= گرم وزن نهایی ماهی، Wt1= گرم وزن اولیه ماهی

نرخ رشد ویژه (He و همکاران، ۲۰۱۰): ضریب رشد ویژه نیز یک شاخص رشد وزنی است که وضعیت رشد ماهیان را به‌طور روزانه نشان می‌دهد.

$$P\ BWI\ (\%) = \frac{(\text{final weight (g)} - \text{initial weight (g)})}{\text{initial weight(g)}} \times ۱۰۰$$

Ln final weight=لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی، Ln initial weight= لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی، Day= طول دوره پرورش به روز

ضریب تبدیل غذایی (He و همکاران، ۲۰۱۰): ضریب تبدیل غذایی بیش‌تر نشان‌دهنده مقدار غذای مورد استفاده در هر آکواریوم می‌باشد زیرا اطمینان از این‌که تمام غذای داده شده مورد استفاده ماهیان قرار گرفته است وجود ندارد:

$$FCR = \frac{\text{feed intake (g)}}{\text{weight gain (g)}}$$

Feed intake=مقدار غذای خورده شده (میلی‌گرم)، Weight gain= افزایش وزن (میلی‌گرم)

شاخص بازماندگی (درصد بقا) (He و همکاران، ۲۰۱۰)):

$$\text{Survival} = \frac{\text{initial fish number} - \text{dead fish number}}{\text{initial fish number}} \times ۱۰۰$$

Initial fish number= تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش، Dead fish number= تعداد ماهیان مرده در طول آزمایش

بیان ژن‌های رشد: استخراج، RNA سنتز و بررسی cDNA سنتز با ازت مایع با استفاده از بیوزول و طبق دستورالعمل شرکت سازنده (Biozol-Bioflux- Bioer) استخراج شد. کیفیت RNA کل با استفاده از الکتروفورز، روی ژل آگارز ۱/۵ درصد و فقدان آلودگی DNA ژنومی با استفاده از نسبت جذب در طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر و با استفاده از دستگاه نانوفتومتر (IMPLEN-P100) انجام شد. ساخت رشته اول cDNA براساس روش پیشنهادی شرکت فرمنتاز (Fermentase- France) انجام گردید. cDNAهای سنتز شده تا شروع آزمایش‌ها در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. طراحی پرایمرها برای ژن‌های (IGF-I و GH) مرتبط با رشد با استفاده از نرم‌افزار پرایمر ۳ انجام شد. واکنش qPCR بعد از بهینه‌سازی دما و مواد مصرفی، در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با استفاده از پرایمر qPCR طراحی شد. برای ژن‌های مذکور و پرایمر ژن رفرنس بتا اکتین توسط کیت سایبر بیوپارس در دستگاه iQ5 شرکت (BIO-RAD, USA) و با استفاده از نرم‌افزار بایورد iQ5 اپتیکال برای بافت مغز در سه تکرار بیولوژیکی و سه تکرار تکنیکی در دمای بهینه برای پرایمر انجام گردید. به‌منظور اطمینان از بهینه بودن شرایط، qPCR سری غلظت‌های مختلف (۱۰/۲۰، ۱/۵، ۱/۲، ۱/۱، ۱/۱ و ۱/۵۰) از نمونه‌های cDNA مخلوط از تیمارهای متفاوت از بافت‌های مذکور تهیه و با هر دو پرایمر هدف و رفرنس در ۳ تکرار تکثیر و منحنی استاندارد جهت تخمین کارایی (E) و تکرارپذیری آزمایش برای هر پرایمر ترسیم شد (Bagheri و همکاران، ۲۰۰۸).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های به‌دست آمده جهت تعیین بیان نسبی ژن IGFI و GH (مرتبط با رشد) نسبت به بتا اکتین با روش ۲- CtΔΔ مورد آنالیز قرار می‌گیرند. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار (SPSS نسخه ۱۶) انجام شد.

نتایج

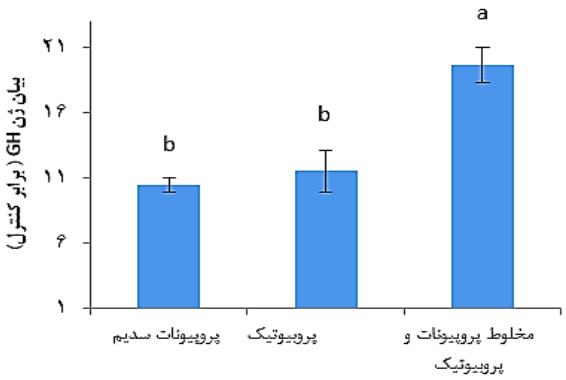
در پایان دوره ماهیان زیست‌سنجی شدند و شاخص‌های رشد در آن‌ها مورد ارزیابی قرارگرفت که با توجه به نتایجی که در جدول ۱ آورده شده وزن در همه تیمارها باهم برابر بود در ابتدای دوره ولی در انتهای دوره طی بررسی وزن و نرخ رشد ویژه، روند افزایشی در تیمارها مشاهده شد که بیش‌ترین میزان در گروه مخلوط پروبیوتیک و پروپیونات سدیم وجود داشت و با گروه شاهد و گروه پروپیونات سدیم و پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$) نتایج داده‌های ضریب تبدیل غذایی نیز روند کاهشی را نشان داد که بین تیمارهای شاهد و سه گروه دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/05$) و تنها در دو گروه پروپیونات‌سدیم و پروبیوتیک باهم تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد($p>0/05$). نرخ با نیز در همه تیمارها باهم برابر بود.

جدول۱: تأثیر سطوح مختلف جیره آزمایشی بر برخی شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهیان کپور معمولی پس از هشت هفته تغذیه

فاکتورهای رشد	شاهد	پروپیونات سدیم	پروبیوتیک	مخلوط
وزن اولیه (گرم)	۱۴/۷۶±۰/۸۹	۱۵/۲۵±۰/۸۸	۱۵/۶۳±۰/۲۸	۱۵/۳±۰/۶۷
وزن ثانویه (گرم)	۲۶/۸۲±۱/۴^{c}	۳۰/۱۶±۲/۲۲^{b}	۳۳/۳۶±۰/۹۱^{b}	۳۵/۵۶±۰/۴۷^{a}
افزایش وزن (گرم)	۱۲/۵±۰/۵۲^{c}	۱۴/۹±۱/۳۵^{b}	۱۶/۷۲±۱/۱۴^{b}	۲۰/۲±۱^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۲/۶۷±۰/۱۱^{c}	۲/۱۶±۰/۱۹^{b}	۱/۹±۰/۱۲^{b}	۱/۵±۰/۰۷^{a}
نرخ رشد ویژه (درصد)	۳/۲±۰/۰۵^{c}	۳/۳۵±۰/۰۷^{b}	۳/۴±۰/۰۲۸^{b}	۳/۵±۰/۰۱^{a}
بقا (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

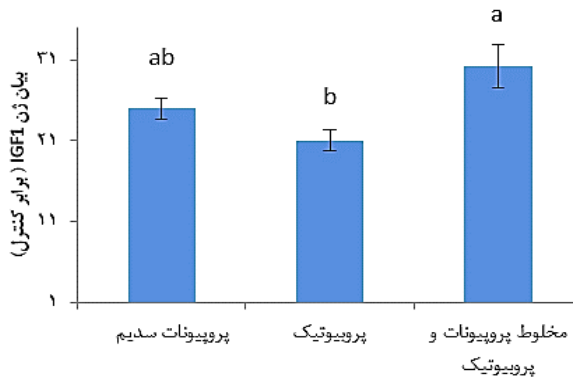
وجود حروف غیرهمنام کوچک روی ستون‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

با توجه به شکل ۱ بیش‌ترین میزان بیان ژن GH در ترکیب پروپیونات و پروبیوتیک به‌صورت مخلوط به‌دست آمد و اختلاف معنی‌داری را با میزان پروبیوتیک و پروپیونات‌سدیم که به تنهایی در جیره استفاده شده بودند از خود نشان داد ($P<0/05$).



شکل ۱: بیان ژنGH در بچه‌ماهی کپور تغذیه شده با پروبیوتیک، پروپیونات سدیم و ترکیب پروپیونات و پروبیوتیک

بیان ژن IGF-I نیز در تیمار پروبیوتیک و پروپیونات‌سدیم مخلوط بیش‌ترین مقدار را بین تیمارها نشان داد و تنها با تیمار پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<0/05$).



شکل ۲: بیان ژنIGF1 در بچه‌ماهی کپور تغذیه شده با پروبیوتیک، پروپیونات سدیم و ترکیب پروپیونات و پروبیوتیک

بحث

صنعت آبزی‌پروری در طول یک دهه گذشته رشد چشمگیری داشته‌است.در میان گونه‌های آبزی‌پرورشی ماهی کپور در کشورهای گرمسیری سرعت تولید بالایی داشته است هر چند برخی از عوامل همانند بیماری‌ها و شرایط تغذیه‌ای نامناسب بر سرعت تولید ماهی کپور تاثیرگذار بوده است. وجود بیماری‌های عفونی و استفاده

بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث ایجاد مقاومت باکتریایی در برخی از باکتری‌های فرصت‌طلب را به همراه داشته است (Balcázar و همکاران، ۲۰۰۶؛ Resende و همکاران، ۲۰۱۲). پروبیوتیک‌ها از طریق بهبود ضریب تبدیل غذایی، تولید پراکسید هیدروژن، اسیدهای آلی و چندین ترکیب با باکتری‌های دیگر رقابت کرده و منجر به افزایش رشد در مراحل اولیه و بهبود بقا می‌شوند (Al-Faragi و همکاران، ۲۰۱۳؛ Dehaghani و همکاران، ۲۰۱۵؛ Zirong و همکاران، ۲۰۰۶). Ziaei-Nejad وهمکاران (۲۰۰۶) اثرات پروبیوتیک *Bacillus subtilis* را به‌مدت هشت هفته با دوز 10^5 و 10^8 بر عملکرد رشد میگوی وانامی مورد بررسی قرار دادند نتایج نشان داد که میزان وزن نهایی در این دو تیمار نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$). Kim و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که جیره حاوی پروبیوتیک *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* به‌مدت هشت هفته در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به بهبود رشد و افزایش وزن شد که توسط اسیدهای آلی بر هیدرولیز پروتئین‌ها اثبات شده است به‌ویژه زمانی که غذا واجد سطوح بالایی از پروتئین است، غلظت هیدروکلریک اسید معده کاهش می‌یابد. این کاهش بر فعالیت پپسین و ترشح آنزیم پانکراس تأثیر منفی بر جای گذاشته و فرآیند هضم را مختل می‌سازد (Luckstadt، ۲۰۰۸). اسیدهای آلی زنجیره کوتاه با انتشار غیرفعال از طریق اپیتلیوم روده جذب می‌شوند و می‌توانند در مسیرهای مختلف متابولیک برای تولید انرژی به‌عنوان مثال برای تولید ATP در چرخه اسیدسیتریک استفاده شوند. لذا باید مقدار انرژی آن‌ها در فرمول جیره مورد محاسبه قرار گیرد (Luckstadt، ۲۰۰۸). به‌عنوان مثال، پروپونیک اسید یک تا پنج برابر بیش‌تر از گندم انرژی دارد. نمک پروپیونات سدیم نقش مهمی در تنظیم اعمال اپی‌تلیال ایفا می‌کند و باعث افزایش تغییرات در فعالیت Na^+/H^+ و بیان پروتئین‌ها در غشا اپیکال روده می‌شود (Topping و Clifon، ۲۰۰۱). نتایج این مطالعه نشان داد که جیره‌های غذایی حاوی پروبیوتیک و سدیم پروپیونات موجب افزایش بیان ژن هر دو هورمون GH و IGF-I می‌شود. میزان بیان ژن GH در گروهی که پروبیوتیک و نمک آلی را دریافت کرده بودند بیش‌تر از پروبیوتیک و اسیدهای آلی بود که احتمالاً به‌دلیل اثر هم افزایی این دو عامل بوده است. هورمون رشد (GH) به‌وسیله قسمت قدامی هیپوفیز ترشح شده و نقش حیاتی را در رشد طبیعی بدن بر عهده دارد (Biga و همکاران، ۲۰۰۵). بهبود رشد احتمالاً به‌دلیل نقش پروبیوتیک و نمک پروپیونات سدیم بر بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی است. مطالعات قبلی ارتباط مثبتی را بین میزان GH و IGF-I در گونه‌های دیگر نشان دادند بر اساس مطالعات Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۷) استفاده از نمک پروپیونات‌سدیم منجر به بهبود بیان ژن GH و IGF-I در ماهی زبرا شد. استفاده از نمک پروپیونات‌سدیم (۰/۲۵٪، ۰/۵٪، ۱٪ و ۲٪) در جیره غذایی ماهی سفید منجر به افزایش معنی‌داری در میزان رشد آن شد (Hoseinifar و همکاران، ۲۰۱۶). تغذیه پروپیونات کلسیم منجر به بهبود رشد، کارایی تبدیل غذا و تولید پروتئین در بچه‌ماهی تیلاپیا نیل شد (Hassaan و همکاران، ۲۰۱۴). افزایش عملکرد رشد و تغذیه با نمک پروپیونات‌سدیم منجر به بهبود قابلیت هضم، تنظیم فعالیت آنزیم‌های گوارشی و میکروبیوتای سیستم گوارشی می‌شود (Sudesh و SitiZahrah، ۲۰۰۹؛ Hoseinifa و همکاران، ۲۰۱۶). اسیدی شدن دستگاه گوارش موجب افزایش جذب مواد معدنی همانند فسفات از فیفات سویا می‌شود (Yengkokpam و Mukherjee، ۲۰۰۷). اسیدهای آلی موجود در غذا pH جیره را از ۵/۸۷ به ۴/۸۵ و pH روده را از ۶/۶۲ به ۵/۶۵ در کپورهندی تغییر داد هم‌چنین فعالیت آنزیم پپسین در معده افزایش یافت (Zhao و همکاران، ۲۰۱۱). در مورد آنزیم‌های پانکراس گزارش شده است که تعدادی از اسیدهای آلی بر آنزیم‌های گوارشی ترشح شده از پانکراس به‌ویژه سکرتین تاثیرگزار هستند که این آنزیم محرک ترشح صفرا و ترشحات خارج سلولی پانکراس است. هم‌چنین میزان آمیلاز، لیپاز و ترپسین در بچه ماهی تغذیه شده با اسیدهای آلی افزایش یافت افزایش ترشح سکرتین در پانکراس ممکن است به‌دلیل کاهش pH باشد (Harada و همکاران، ۱۹۸۸). Da Silva و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که استفاده از نمک پروپیونات‌سدیم از طریق مهار عوامل بیماریزا، بهبود تیتر آگلوتیناسیون سرم، تغییر فلور باکتری روده و افزایش راندمان تغذیه باعث بهبود عملکرد بدن میگوی وانامی شدند. بیش‌تر اسیدهای آلی به‌دلیل ساختار ساده و اندازه کوچک می‌توانند عملکرد مفیدی داشته باشند و به‌راحتی در درون سلول‌ها نفوذ کنند. مطالعات دیگر نشان داد که اسیدهای آلی تاثیری بر میزان رشد نداشتند (Gislason و همکاران، ۱۹۹۶؛ Ng و همکاران، ۲۰۰۹) که به‌نظر می‌رسد به‌دلیل نوع گونه ماهی و میزان اسید الی مورد استفاده و نوع اسید آلی باشد هم‌چنین ترکیبات جیره‌های آزمایشی، ظرفیت بافری مواد تشکیل‌دهنده جیره، مدیریت پرورش، اندازه و سن ماهیان، نوع و سطوح اسیدهای آلی و نمک‌هایشان یا ترکیب آن‌ها، تغذیه و کیفیت آب از دیگر عوامل مؤثر باشند (Luckstadt و همکاران، ۲۰۰۸). در این پژوهش استفاده از نمک پروپیونات‌سدیم و پروبیوتیک *Pediococcus* موجب افزایش بیان ژن‌های GH و GIF-I شد که متعاقباً بر فاکتورهای رشد ضریب تبدیل غذای و افزایش رشد بدن، تأثیر دارد. هم‌چنین افزایش باکتری‌های مفید روده باکتری‌های اسیدلاکتیک در بچه‌ماهی کپور شد. به‌نظر می‌رسد این نتایج می‌تواند به افزایش بهره‌وری اقتصادی با افزایش بازده محصول و وضعیت سلامت ماهیان در پروش تجاری ماهیان تا حدودی کمک نماید.

منابع

۱. **جافرنوده، ع.؛ امیرتوکمه‌چی، ا.؛ حسین‌نجدگرامی، ا.؛ حاجی مرادلو، ع. و نوری، ف.** اثرات سینرژیستی اسیدآلی پتاسیم سوربات و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی بر شاخص‌های رشد، خونی، ترکیب لاشه و فلور میکروبی روده در بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. نشریه توسعه آبزی‌پروری. دوره ۱۱، شماره ۱، صفحات ۲۵ تا ۳۷.

۲. **Al-Faragi, J.K. and Al-Saphar, S.A., 2013.** Effect of local probiotic on common carp growth performance and survival rate. Journal of Genetic and Environmental Resources Conservation. Vol. 1, No. 2, pp: 89-96.

۳. **Bagheri, T.; Hedayati, S.A.; Yavari, V.; Alizade, M. and Farzanfar, A., 2008.** Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. 8, No. 1, pp: 43-48.

۴. **Balcázar, J.L.; De Blas, I.; Ruiz-Zarzuela, I.; Cunningham, D.; Vendrell, D. and Múzquiz, J.L., 2006.** The role of probiotics in aquaculture. Veterinary microbiology. Vol. 114, No. 3-4, pp: 173-186.

۵. **Biga, P.R.; Peterson, B.C.; Schelling, G.T.; Hardy, R.W.; Cain, K.D.; Overturf, K. and Ott, T.L., 2005.** Bovine growth hormone treatment increased IGF-I in circulation and induced the production of a specific immune response in rainbow trout. Aquaculture. Vol. 246, No. 1-4, pp: 437-445

۶. **Carnevali, O.; Cardinali, M.; Maradonna, F.; Parisi, M.; Olivotto, I.; Polzonetti-Magni, A.M. and Funkenstein, B., 2005.** Hormonal regulation of hepatic IGF-I and IGF-II gene expression in the marine teleost *Sparus aurata*. Molecular reproduction and development. Vol. 71, pp: 12-18.

۷. **Castillo, S.; Rosales, M.; Pohlenz, C. and Gatlin, D.M., 2014.** Effects of organic acids on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture. Vol. 433, pp: 6-12.

۸. **Cuvin-Aralar, M.L.A.; Luckstaedt, C.; Schroeder, K. and Kühlmann, K.J., 2011.** Effect of dietary organic acid salts, potassium diformate and sodium diformate on the growth performance of male Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Bulletin of Fish Biology. Vol. 13, No. 1-2, pp: 33-40.

۹. **Dehaghani, P.G.; Baboli, M.J.; Moghadam, A.T.; Ziaei Nejad, S. and Pourfarhadi, M., 2015.** Effect of synbiotic dietary supplementation on survival, growth performance, and digestive enzyme activities of common carp fingerlings. Czech J of Animal Science. Vol. 60, No. 5, pp: 224-232.

۱۰. **Gislason, G.; Olsen, R.E. and Ringø, E., 1994.** Lack of growth-stimulating effect of lactate on Atlantic Salmon. Aquaculture Research. Vol. 25, No. 8, pp: 861-862.

۱۱. **Harada, E.; Kiriyama, H.; Kobayashi, E. and Tsuchita, H., 1988.** Postnatal development of biliary and pancreatic exocrine secretion in piglets. Comparative biochemistry and physiology. A, Comparative physiology. Vol. 91, pp: 43-51.

۱۲. **He, S.; Zhou, Z.; Liu, Y.; Cao, Y.; Meng, K.; Shi, P. and Ringø, E., 2010.** Effects of the antibiotic growth promoters flavomycin and florfenicol on the autochthonous intestinal microbiota of hybrid tilapia. Archives of microbiology. Vol. 192, No. 12, pp: 985-994.

۱۳. **Hoseinifar, S.H.; Zoheiri, F. and Caipang, C.M., 2016.** Dietary sodium propionate improved performance, mucosal and humoral immune responses in Caspian white fish fry. Fish & shellfish immunology. Vol. 55, pp: 523-528.

۱۴. **Hossain, M.A.; Pandey, A. and Satoh, S., 2007.** Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in red sea bream. Fisheries Science. Vol. 73, No. 6, pp: 1309-1317.

۱۵. **Kim, Y.Y.; Kil, D.Y.; Oh, H.K. and Han, I.K., 2005.** material to antibiotics in animal feed. Australasian j of animal sciences. Vol. 18, No. 7, pp: 1048.

۱۶. **Koh, C.B.; Romano, N.; Zahrah, A.S. and Ng, W.K., 2016.** Effects of a dietary organic acids blend and oxytetracycline on the growth, nutrient utilization and total cultivable gut microbiota of the red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp., and resistance to *Streptococcus* agalactiae. Aquaculture research. Vol. 47, No. 2, pp: 357-369.

۱۷. **Luckstadt, C., 2008.** The use of acidifiers in fish nutrition. CAB Reviews: perspectives in agriculture, veterinary science, nutrition and natural resources. Vol. 3, pp: 1-8.

۱۸. **Ng, W.K.; Koh, C.B.; Sudesh, K. and Siti-Zahrah, A., 2009.** Effects of dietary organic acids on growth, nutrient digestibility and gut microflora of red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp. and subsequent survival during a challenge test with Streptococcus agalactiae. Aquaculture research. Vol. 40, No. 13, pp: 1490-1500.

۱۹. **Pandey, A. and Satoh, S., 2008**. Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in rainbow trout. Fisheries Science. Vol. 74, No. 4, pp: 867-874.

۲۰. **Resende, J.A.; Silva, V.L.; Fontes, C.O.; Souza-Filho, J.A.; de Oliveira, T.L.R.; Coelho, C.M. and Diniz, C.G., 2012.** Multidrug-resistance and toxic metal tolerance of medically important bacteria isolated from an aquaculture system. Microbes and environments. Vol. 27, pp: 449-455.

۲۱. **Safari, O. and Sang Atash, M.M., 2013.** Study on the effects of probiotic, *Pediococcus acidilactici* in the diet on some biological indices of Oscar. International Research Journal of Applied and Basic Sciences. Vol. 4, pp: 58-64.

۲۲. **Safari, R.; Hoseinifar, S.H. and Kavandi, M., 2016.** Modulation of antioxidant defense and immune response in zebra fish using dietary sodium propionate. Fish physiology and biochemistry. Vol. 42, No. 6, pp: 1733-1739.

۲۳. **Silva, B.C.; Vieira, F.D.N.; Mouriño, J.L.P.; Bolivar, N. and Seiffert, W.Q., 2016.** Butyrate and propionate improve the growth performance of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture research. Vol. 47, No. 2, pp: 612-623.

۲۴. **Suryanarayana, M.V.A.N.; Suresh, J. and Rajasekhar, M.V., 2012.** Organic acids in swine feeding: a review. Agric Sci Res J. Vol. 2, pp: 523-533.

۲۵. **Taokan, Y.; Maeda, H.; JO, J.Y.; Jeon, M.J.; Bai, S.C.; Lee, W.J. and Koshio, S., 2006.** Growth, stress tolerance and non-specific immune response of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* to probiotics in a closed recirculating system. Fisheries Science. Vol. 72, No. 2, pp: 310-321.

۲۶. **Topping, D.L. and Clifton, P.M., 2001.** Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. Physiological reviews. Vol. 81, No. 3, pp: 1031-1064.

۲۷. **Verschuere, L.; Rombaut, G.; Sorgeloos, P. and Verstraete, W., 2000.** Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiology and molecular biology reviews. Vol. 64, No. 4, pp: 655-671.

۲۸. **Verschuere, L.; Rombaut, G.; Sorgeloos, P. and Verstraete, W., 2000.** Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiology and molecular biology reviews. Vol. 64, No. 4, pp: 655-671.

۲۹. **Yanbo, W. and Zirong, X., 2006.** Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Animal feed science and technology. Vol. 127, No. 3-4, pp: 283-292.

۳۰. **Zhao, L.; Budge, S.M.; Ghaly, A.E.; Brooks, M.S. and Dave, D., 2011.** Extraction, purification and characterization of fish pepsin: a critical review. J Food Process Technol. Vol. 2, No. 6, pp: 2-6.

۳۱. **Ziaei-Nejad, S.; Rezaei, M.H.; Takami, G.A.; Lovett, D.L.; Mirvaghefi, A.R. and Shakouri, M., 2006.** The effect of Bacillus spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp. Aquaculture. Vol. 252, No. 2-4, pp: 516-524.