(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131591



**مقاله پژوهشی**

# اثرات به‌کارگیری بتایین و مولتی آنزیم آپسوزایم در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و بیان ژن هورمون رشد (GH-IGF) در فیل‌ماهی (*Huso huso*)


- **محمد همایونی***: 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
- **محمدرضا ایمانپور**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران


تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۸

## چکیده

**در این آزمایش اثر مولتی‌آنزیم و بتایین به‌صورت مجزا و ترکیبی بر شاخص‌های عملکرد رشد (افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی) و بیان ژن هورمون (GH) در فیل‌ماهی (*Huso huso*) مورد بررسی قرار گرفت. بدین‌منظور ۱۸۰ قطعه ماهی خاویاری با میانگین وزنی ۰/۵±۱۹/۵ گرم به‌مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف ۰، ۱ و ۱/۵ درصد بتائین به‌صورت ترکیبی با سطوح ۰،۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم آپسوزایم بر کیلوگرم غذا تغذیه شدند. در انتهای دوره فاکتورهای رشد بررسی و جهت مطالعه ژنتیکی، RNA از بافت مغز و کبد استخراج، سنتز cDNA با استفاده از کیت Suprime Script انجام و سنجش بیان ژن مرتبط با رشد (IGF-GH) با استفاده از Real TimePCR انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش میزان بتایین اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های افزایش وزن، ضریب رشد ویژه (SGR) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) و بیان ژن رشد در تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (P>۰/۰۵). اما با بالا رفتن میزان آپسوزایم از ۲۵۰ به ۵۰۰ میلی‌گرم در شرایط بدون بتایین افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در میزان شاخص‌های افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و بیان ژن رشد مشاهده شد و هم‌چنین ضریب تبدیل غذایی به‌طور معنی‌داری بهبود یافت. شاخص بهترین عملکرد رشد (افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی) و بیان ژن رشد در تیمارهای ترکیبی (۵۰۰ میلی‌گرم آپسوزایم و۱ و ۱/۵٪ بتایین ) بود (P<۰/۰۵).**

**کلمات کلیدی:** مولتی آنزیم آپسوزایم، جاذب بتائین، رشد، ژن رشد



* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mohammadhomayouni7292@gmail.com

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131591



## مقدمه

در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای به صنعت آبزی‌پروری و توسعه پرورش گونه‌های جدید در ایران شده است که در این میان پرورش ماهیان خاویاری به‌عنوان یک صنعت موفق در تولید خاویار و گوشت قابل‌ملاحظه‌است(Geraylou و همکاران، ۲۰۱۲).در میان تاس‌ماهیان موجود در منطقه جنوبی خزر، گونه فیل‌ماهی(*Huso huso*) با هزینه تولید کم‌تر، کاندید مناسبی برای پرورش به‌شمار می‌رود (محسنی و همکاران، ۱۳۹۷).داشتن اطلاعات مورد نیاز در زمینه مطلوبیت غذایی در آبزی‌پروری می‌تواند شناختی را در امر فیزیولوژی تغذیه ایجاد نماید که در موفقیت یک پرورش‌دهنده تأثیر به‌سزایی داشته باشد. آنزیم‌ها دسته‌ای از ترکیبات طبیعی هستند که موجب افزایش سرعت و بازده انواع فرآیندهای شیمیایی یا متابولیکی در جانداران می‌شوند (Mazandarani و همکاران، ۲۰۰۹) و امروزه استفاده از آن‌ها برای بهبود تغذیه آبزیان توسعه یافته است (عادلیان و همکاران، ۱۳۹۲). آنزیم‌ها با از بین بردن فاکتورهای ضدتغذیه‌ای باعث بهبود عملکرد رشد ماهیان می‌شوند (Soltan، ۲۰۰۹). آنزیم‌های تجاری ترکیبی از چند نوع آنزیم هستند که می‌توانند روی اجزا مختلف غذایی تاثیرگذار باشند (Ritz و همکاران، ۱۹۹۵). مولتی آنزیم آپسوزایم به‌طور غالب حاوی آنزیم زایلاناز و بتاگلوکاناز می‌باشد، ترکیب آپوسازایم شامل اندو-بتا-گلوکاناز، اندو-بتا-زایلاناز، آلفاگالاکتوزیداز، بتاماناناز می‌باشد. ترکیبات آنزیمی‌فرعی در این محصول عبارتند از: سلولاز، همی‌سلولاز، آلفاگالاکتوزیداز، بتاماناناز و انواع پروتئازها (حاجاتی و صفایی، ۱۳۹۶). بنابراین باتوضیحات‌داده‌شده‌در بالا انتظار می‌رود مولتی‌آنزیم آپسازایم باعث بهبود رشد و بیان ژن‌های رشد در بچه فیل‌ماهی (*Huso huso*) شود. درخصوص بیان ژن رشد توسط آنزیم‌ها مطالعات چندانی صورت نگرفته اما در زمینه رشد، مطالعات Turan و Yildirim (۲۰۱۰) بر روی گربه‌ماهی آفریقایی(*Clarias gariepinus*)، Zamini و همکاران (۲۰۱۰)برروی ماهی‌آزادخزر (*Salmo trutta caspius*)، Lin و همکاران (۲۰۰۷) بر روی هیبرید تیلاپیا (*Oerochromis nioticus*×*O. aureus*)، Bogut و همکاران (۱۹۹۵) بر روی کپورماهی انگشت‌قد (*Cyprinus carpio*) و هم‌چنین عادلیان و همکاران (۱۳۹۲) بر روی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) را شامل می‌شود. کیفیت و کمیت جیره از مواردی است که می‌تواند در سرعت رشد و افزایش تولید حائز اهمیت باشد. با دستیابی به ترکیبات بهینه اقلام غذایی و مقادیر مناسب آن‌ها در یک جیره بالانس شده، روند رشد را بهبود می‌یابد (Afsharmazandaran، ۲۰۰۲). استفاده کردن از مواد جاذب در جیره‌های غذایی در طی سال‌های اخیر به‌عنوان یک ضرورت انکار ناپذیر در افزایش مطلوبیت غذا و کاهش هزینه‌های مربوط به آن بیان شده است (Sudagar و همکاران، ۲۰۰۵). از جمله آن‌ها می‌توان به بتائین، اسیدهای آمینه، الکل‌ها، آلدئیدها و مواد چشایی کلاسیک، نوکلئوتیدها، شکر و دیگر هیدروکربن‌ها، اسیدهای آلی و مخلوطی از این مواد اشاره کرد (Sudagar و همکاران، ۲۰۰۷). بتائین به‌عنوان یک جاذب غذایی با خاصیت متیل‌دهندگی، کاهش ایجادچربی در کبد و ترمیم آسیب‌های کبدی می‌تواندباعث‌افزایش‌رشد شود(Loguercio و همکاران، ۲۰۰۷). مطالعاتی‌درخصوص بیان‌ژن رشد توسط‌بتائین صورت نگرفته است اما درخصوص‌رشد مطالعات انجام‌شده شامل مطالعه Sudagar و همکاران (۲۰۰۵) بر روی فیل‌ماهی جوان (*Huso huso*)، مطالعه Fekrandish و همکاران (۲۰۱۰) بر روی میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) و ... می‌شود. از آن‌جاکه مطالعه‌ای در زمینه اثرگذاری ترکیبی بتائین و مولتی آنزیم آپسوزایم بر فاکتورهای رشد و بیان ژن رشد(GH,IGF-1)در گونه فیل‌ماهی(*Hosu hosu*) صورت‌نگرفته است. مطالعه حاضر با هدف بررسی پارامترهای مذکور صورت پذیرفت.

## مواد و روش‌ها

**ماهی و شرایط آزمایش**: این آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در تیرماه ۱۳۹۶ به‌مدت دو ماه در نه تیمار و سه تکرار در سالن آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. ماهی‌ها از مرکز تکثیر شهید رجائی تهیه و به مرکز آبزی‌پروری آورده شدند. فیل‌ماهی (*Huso huso*) پس از مواجهه با حمام نمک ۲٪ در ۱۸ ونیرو به حجم ۵۰۰ لیتر، با میانگین وزنی ۲±۳۳ گرم به تعداد ۷ عدد در هر ونیرو قرار داده شدند. دما در ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد تامین شد. آب آزمایشگاه از آب شهری تأمین شد که پس از ریخته شدن در مخازن ذخیره آب به‌مدت ۲۴ ساعت هوادهی شد تا کلرزدایی شود. جهت سازگار کردن ماهی‌ها به‌مدت یک هفته با جیره غذایی بدون آنزیم و جاذب تغذیه شدند. جهت اندازه‌گیری میزان غذای مورد نیاز ماهیان هر چهار هفته یک‌بار ماهیان زیست‌سنجی شدند که در کل دوره غذای داده شده ۳٪ بیوماس موجود بود.در طی کل آزمایش هیچ‌گونه تلفات و یا نشانه‌های بیماری در ماهیان دیده نشد.

**آماده‌سازی‌جیره‌غذایی**: بتائین مورد استفاده به‌صورت پودری و توسط شرکت بیوشم آلمان Scholarly groups و آپسوزایم مورد استفاده (آپسوزایم، بیوپروتون، استرالیا) تهیه گردید. ماهیان با جیره غذایی کوپنز حاوی بتائین در سه سطح ۰، ۱ و ۱/۵ درصد به‌صورت ترکیبی با سطوح ۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا، تغذیه شدند. برای این کار بتائین و مولتی‌آنزیم آپسوزایم توسط ترازو با دقت یک ده هزارم گرم توزین شد و بعد آن را به حدود یک لیتر آب اضافه شده و سپس جهت جلوگیری از آب‌شویی و بهتر چسبیدن مواد بر

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131591



روی غذا از به‌مقدار ۳ گرم بر ۱۰۰ سی‌سی آب به آن ژلاتین اضافه کرده و سپس توسط افشانه به غذا اضافه گردید.

**زیست‌سنجی ماهیان**: در تمام تیمارها زیست‌سنجی هر چهار هفته یک‌بار انجام شد. وزن و طول اولیه تمامی بچه‌ماهیان به‌ترتیب با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم و خط‌کش با دقت ۰/۱ سانتی‌متر محاسبه شد.

**محاسبه فاکتورهای رشد**: پس از پایان دوره آزمایش، شاخص‌های رشد شامل درصد افزایش وزن بدن (Percent = PBWI body Weight Increase)، فاکتور وضعیت (CF= Condition Factor)، نرخ رشد ویژه (SGR= Specific Growth Rate) و ضریب تبدیل غذایی با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شدند.

$$PBWI\ (\%) = (BWf-BWi)/BWi\times 100٪$$

که در این فرمول متوسط وزن اولیه (گرم) در هر مخزن Bwf متوسط وزن نهایی (گرم) است.

فاکتور وضعیت (CF) توسط (فرمول ۲) محاسبه شد.

$$CF = (BW/TL3) \times 100$$

که در این فرمول BW میانگین وزن نهایی بدن (گرم) و TL میانگین طول کل نهایی (سانتی‌متر) است.

نرخ رشد (G.R) روزانه (گرم/روز) طبق رابطه ۳ محاسبه شد.

$$G.R = (Bwi-Bwf)/n$$

که در این فرمول Bwi متوسط وزن اولیه (گرم)، Bwf متوسط وزن نهایی (گرم) و N تعداد روزهای پرورش است.

نرخ رشد ویژه (S.G.R) طبق فرمول ۴ محاسبه شد:

$$S.G.R = (LnWt-LnWo)/t\times 100$$

که در این فرمول Wo میانگین اولیه بیومس (گرم)، Wt میانگین بیومس نهایی (گرم) و T تعداد روزهای پرورش است.

ضریب تبدیل غذایی (FCR= Feed Conversion Ratio) طبق فرمول ۵ محاسبه شد.

$$FCR= C\times T/Wt-Wo$$

C مقدار غذای خورده شده (گرم)، T روزهای پرورش، Wt وزن نهایی (گرم) و Wo وزن اولیه (گرم) است.

**نمونه‌برداری:** در انتهای دوره پرورش، نمونه‌برداری از ماهیان مورد آزمایش هر تیمار و تکرارهای آن (تعداد ۳ نمونه در هر مخزن) به‌طور تصادفی برداشته و آزمایش انجام گرفت. به‌منظور انجام آزمایش‌های سنجش کمی بیان ژن GH,IGF-1، در همه نمونه‌ها از مغز و کبد ماهی نمونه‌برداری انجام شد. سپس نمونه‌ها با استفاده از ازت مایع سریعاً منجمد و تا شروع آزمایش در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

**استخراج RNA**: استخراج RNA براساس روش Oguz توسط ماده هضم‌کننده بایوزول (Biozol) انجام شد (Oguz و Goncuolu، ۲۰۱۱). به‌میزان ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه بافت کوبیده شده به تیوپ‌های از قبل استریل شده انتقال یافت و به‌میزان ۱ میلی‌لیتر از بایوزول به آن‌ها اضافه شد و پس از ورتکس (Vortex) به‌مدت ۱۵ ثانیه، در دمای اتاق به‌مدت ۱۵ دقیقه نگه‌داری شدند. سپس به‌میزان ۰/۲۰ میلی‌لیتر کلروفرم (Chloroform) به تیوپ‌ها اضافه شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه بر روی یخ نگه‌داری شدند. تیوپ‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با دور g ۱۲۰۰۰ در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند سپس فاز آبی قسمت بالایی تیوپ‌ها جدا شد و به تیوپ‌های از قبل استریل شده منتقل شدند و هم حجم آن‌ها ایزوپروپانول (Isopropanol) سرد که قبلاً به‌مدت ۳۰ دقیقه در یخچال ۲۰- نگه‌داری شده بود، اضافه شد سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ ۴ درجه سلسیوس با دور g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ تیوپ‌ها به‌روی یخ انتقال داده شدند و فاز بالایی دور ریخته شد و به‌میزان ۱ میلی‌لیتر از اتانول ۷۵ درصد جهت شستن پلت RNA کف تیوپ‌ها به آن‌ها اضافه شد و به‌مدت ۵ دقیقه با سانتریفیوژ g ۱۲۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ در مرحله قبل، در این مرحله RNA به‌صورت پلت سفید متمایل به کرم‌رنگ در ته تیوپ‌ها دیده می‌شود که در این مرحله اتانول داخل تیوپ‌ها دور ریخته شد درنهایت پلت RNA در زیر هود کاملاً خشک شد. سپس به‌میزان ۵۰ ماکرولیتر آب DEPC (Diethyl pyrocarbonate) عاری از RNase به ویال‌ها اضافه شد و تا زمان استفاده جهت تعیین کیفیت RNA و سنتز cDNA در فریزر ۸۰- نگه‌داری شدند.

**ارزیابی کیفی و کمی RNA استخراج‌شده:** RNA استخراج شده به دو روش کیفی و کمی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد که جهت ارزیابی کیفی از دستگاه الکتروفورز و ژل آگاروز ۱٪ و جهت ارزیابی کمی جذب نوری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ در دستگاه نانوفتومتر (Nano photometer) خوانده شد.

**سنتز cDNA**: سنتز cDNA با استفاده از مسترمیکس (Mastermix) سنتز cDNA شرکت جینت بایو (GENET BIO) محصول کشور کره و طبق دستورالعمل آن انجام شد. ۵ میکرولیتر از RNA که قبلاً آماده شده به همراه ۱ میکرولیتر آغازگر الیگو به تیوپ‌های جدید اضافه شد و با آب عاری از نوکلئاز به حجم ۱۰ میکرولیتر رسید. سپس بر روی بلوک حرارتی در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه انکوبه گردید و سپس به‌روی یخ انتقال داده شد و ۱۰ میکرولیتر مستر حاوی آنزیم ریورس‌ترانسکریپتاز (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 سنتزشده به حجم ۲۰ میکرولیتر به دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131591



**جدول ۱: توالی آغازگرهای استفاده شده (Safari و همکاران، ۲۰۱۶)**

| توالی آغازگرها | دمای اتصال | طول قطعه (bp) | ژن | کارایی پرایمر |
|---|---|---|---|---|
| F: AGACATCAGGGTGTCATGGT<br>R: CTCAAACATGATCTGTGTCAT | ۵۸ | ۲۲۴ | beta-actin | ٪۹۳ |
| F: TTCATGATGAGTGCTCCGTTC<br>R: GTCAGAATTCAAGTGGCGAATC | ۵۸ | ۲۱۰ | GH | ۹۵٪ |
| F: CAAACATGATCTGTATGTG<br>R: AGAATTCAAGTGGCGACATG | ۵۸ | ۲۲۰ | IGF | ۹۵٪ |

قبل از انجام Real time PCR برای مطمئن شدن از درستی آغازگرها و اندازه باندهای تشکیل‌شده محصولات حاصل از آن‌ها و هم‌چنین آزمایش نمودن cDNA، PCR معمولی نمونه‌ها با استفاده از ۲ میکرولیتر نمونه cDNA رقیق‌شده، ۱ میکرولیتر آغازگر پیش‌رونده (۱۰پیکومول)، ۱میکرولیتر آغازگر پس‌رونده(۱۰پیکومول)، ۳میکرولیتر آب استریل‌عاری از نوکلئاز، ۵ میکرولیتر مسترمیکس PCR انجام شد. Real time PCR در تیوپ‌های مخصوص با استفاده از در ۴ تکرار تکنیکی بااستفاده‌از ۱۰میکرولیتر بافر سایبرگرین، ۱میکرولیتر آغازگر پیش‌رونده ژن هدف و بتااکتین به‌عنوان ژن رفرنس، ۱ میکرولیتر آغازگر پس‌رونده ژن هدف و رفرنس، ۲/۸ میکرولیتر آب، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم تگ پلیمراز (Tag polymerase) و ۵ میکرولیتر cDNA رقیق‌شده انجام شد. به‌منظور اطمینان از بهینه بودن شرایط Real time PCR، سری غلظت‌های‌مختلف(۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۵۰، ۱/۱۰۰ و ۱/۲۰۰)ازنمونه‌های cDNA مخلوط از تیمارهای متفاوت هر پلت تهیه و با هر دو آغازگر هدف و رفرنس در ۴ تکرار تکثیر شدند و جهت تخمین کارایی و تکرارپذیری آزمایش برای هر آغازگر منحنی استاندارد ترسیم شد (Ramakers و همکاران، ۲۰۰۳)وکارایی‌برای‌هر آغازگر ارزیابی گردید.

## نتایج

اثرات ترکیب آپسوزایم و بتائین و اثرات هر یک از آن‌ها به‌طور مجزا، بر شاخص‌های رشد و تغذیه بچه فیل‌ماهی پس از ۸ هفته تغذیه، در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج شاخص میانگین طول و وزن در ابتدای دوره اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد (P>۰/۰۵).

در شاخص میانگین‌وزن ثانویه اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد(P<۰/۰۵)، در این شاخص در تیمار حاوی بتائین اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نشد اما در تیمارهای حاوی مولتی آنزیم با افزایش سطح مولتی آنزیم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). هم‌چنین در تیمارهای حاوی ترکیب مولتی آنزیم و بتائین میانگین وزن ثانویه افزایش معنی‌داری نسبت به تیمارهای مجزای بتائین و مولتی آنزیم نشان داد (P<۰/۰۵).

در شاخص درصد افزایش وزن نیز اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی نشان داد (P<۰/۰۵). در این شاخص در تیمار حاوی بتائین اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نشد ولی در تیمارهای حاوی مولتی آنزیم با افزایش سطح مولتی آنزیم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). هم‌چنین در تیمارهای حاوی ترکیب مولتی آنزیم و بتائین میانگین درصد افزایش وزن، افزایش معنی‌داری نسبت به تیمارهای مجزای بتائین و مولتی آنزیم نشان داد (P<۰/۰۵).

در شاخص نرخ رشد ویژه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد مشاهده شد. در تیمار حاوی بتائین اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نشد ولی در تیمارهای حاوی مولتی آنزیم با افزایش سطح مولتی آنزیم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). هم‌چنین در تیمارهای ترکیبی افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) نسبت به تیمار مجزای بتائین و مولتی آنزیم مشاهده شد. در فاکتور ضریب تبدیل غذایی با افزایش سطح مولتی آنزیم و در جیره‌های ترکیب مولتی آنزیم و بتائین این فاکتور به‌طور معنی‌داری بهبود و کاهش یافت (P<۰/۰۵). در فاکتور وضعیت اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد(P>۰/۰۵).

نتایج اثرات مجزا و ترکیب آپسوزایم و بتائین بر بیان ژن‌های رشد بچه‌ماهی فیل‌ماهی پس از ۸ هفته تغذیه موید نتایج مطالعه شاخص‌های رشد بود و نشان داد که با افزایش میزان بتایین اختلاف معنی‌داری در میزان بیان این ژن‌ها در تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (شکل‌های ۱ و ۲).

اما با بالا رفتن میزان آپسوزایم از ۲۵۰ به ۵۰۰ در شرایط بدون بتائین افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در میزان بیان مشاهده شد و در تیمارهای ترکیبی(۵۰۰ آپسوزایم و ۱ و ۱/۵٪ بتایین)میزان این افزایش نسبت به تیمارهای مجزا بیش‌تر بوده است (P<۰/۰۵) (شکل‌های ۱ و ۲).

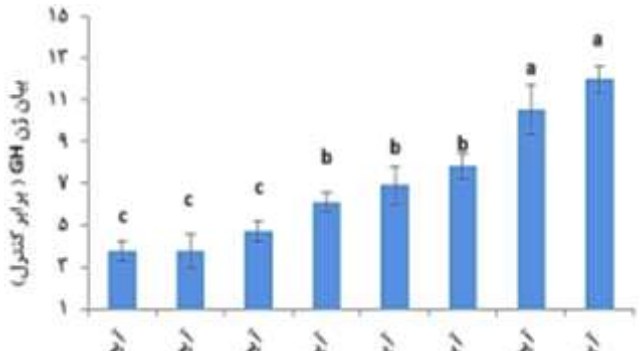
(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131591



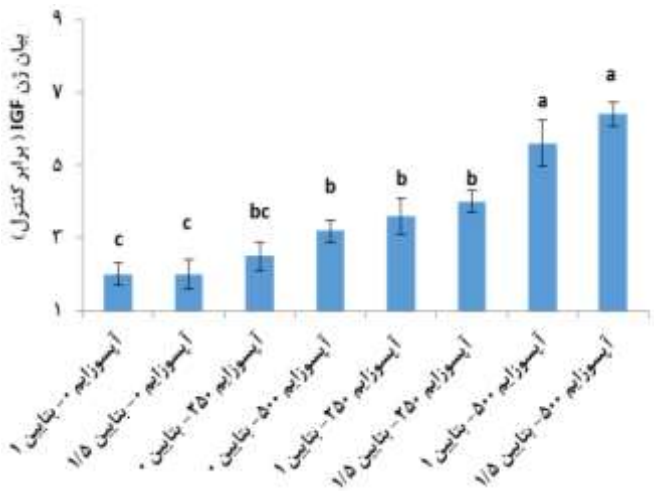
**جدول ۲: مقایسه برخی شاخص‌های رشد بچه فیل‌ماهی تغذیه شده طی ۸ هفته با جیره حاوی مولتی آنزیم و جاذب بتائین**

| تیمار | وزن اولیه (گرم) | وزن نهایی (گرم) | افزایش وزن (گرم) | درصد افزایش وزن | ضریب تبدیل غذایی | نرخ رشد ویژه (درصد در روز) | فاکتور وضعیت |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| آپسوزایم ۰- بتائین ۰ | ۳۲/۶۶±۲/۰۸ $^{a}$ | ۱۱۸/۰۰±۲/۹$^{c}$ | ۸۵/۶±۳/۰۲$^{c}$ | ۲۶۲/۹۸±۲۱/۳۸$^{bc}$ | ۱/۴۶±۰/۰۵$^{a}$ | ۲/۱۴±۰/۰۹۸$^{d}$ | ۰/۳۳±۰/۰۱$^{a}$ |
| آپسوزایم ۰- بتائین ۱ | ۳۳/۹۳±۱/۷۲ $^{a}$ | ۱۲۲/۱±۲/۹$^{c}$ | ۸۸/۲±۱/۸۶ $^{c}$ | ۲۶۰/۴±۱۲/۸۵$^{bc}$ | ۱/۴۱±۰/۰۲$^{a}$ | ۲/۱۳±۰/۰۹$^{d}$ | ۰/۳۳±۰/۰۱$^{a}$ |
| آپسوزایم ۰- بتائین ۱/۵ | ۳۳/۰۶±۰/۹ $^{a}$ | ۱۱۹/۱±۱/۰۰$^{c}$ | ۸۵/۹۳±۰/۱۱ $^{c}$ | ۲۶۰/۰۰±۶/۷$^{bc}$ | ۱/۴۵±۰/۰۰$^{a}$ | ۲/۱۳±۰/۰۳$^{d}$ | ۰/۳۴±۰/۰۱$^{a}$ |
| آپسوزایم ۲۵۰- بتائین ۰ | ۳۰/۷۳±۳/۰۳ $^{a}$ | ۱۲۱/۴±۳/۱۵$^{c}$ | ۹۰/۷±۵/۹۰ $^{c}$ | ۲۹۷/۸۵±۴۲$^{bc}$ | ۱/۳۸±۰/۰۷ $^{a}$ | ۲/۲۹±۰/۰۸ $^{cd}$ | ۰/۳۳±۰/۰۱$^{a}$ |
| آپسوزایم ۵۰۰- بتائین ۰ | ۳۵/۳۳±۲/۸۸ $^{a}$ | ۱۴۸/۱±۷/۱$^{b}$ | ۱۰۶/۰۰±۵/۸$^{b}$ | ۳۱۴/۰۰±۱۲/۳۴$^{ab}$ | ۱/۱۷±۰/۰۶ $^{b}$ | ۲/۳۶±۰/۰۵ $^{bc}$ | ۰/۳۲±۰/۰۱$^{a}$ |
| آپسوزایم ۲۵۰- بتائین ۱ | ۳۳/۷۳±۱/۱ $^{a}$ | ۱۴۵/۰۱±۳/۲$^{b}$ | ۱۰۷/۰۰±۲/۶$^{b}$ | ۳۱۷/۴۰±۱۰/۲$^{ab}$ | ۱/۱۶±۰/۰۲$^{b}$ | ۲/۳۸±۰/۰۴$^{abc}$ | ۰/۳۴±۰/۰۱$^{a}$ |
| آپسوزایم ۲۵۰- بتائین ۱/۵ | ۳۲/۴±۰/۵۳ $^{a}$ | ۱۴۴/۷±۳/۸$^{b}$ | ۱۱۱/۷±۳/۶$^{b}$ | ۳۴۴/۹۸±۱۱/۳۷$^{ab}$ | ۱/۱۱±۰/۳۶$^{bc}$ | ۲/۴۸±۰/۰۴$^{ab}$ | ۰/۳۳±۰/۰۱$^{a}$ |
| آپسوزایم ۵۰۰- بتائین ۱ | ۳۲/۳۳±۳/۷$^{a}$ | ۱۵۲/۸±۱/۵$^{a}$ | ۱۱۹/۴±۲/۶$^{a}$ | ۳۶۲/۳±۵۱$^{a}$ | ۱/۰۴±۰/۰۲$^{c}$ | ۲/۵۴±۰/۱۸$^{ab}$ | ۰/۳۴±۰/۰۱$^{a}$ |
| آپسوزایم ۵۰۰- بتائین ۱/۵ | ۳۲/۶۶±۲/۰۸$^{a}$ | ۱۵۲/۲۷/۶$^{a}$ | ۱۲۰/۱±۲/۸$^{a}$ | ۳۶۸/۷۷±۲۷/۴$^{a}$ | ۱/۰۴±۰/۰۲$^{c}$ | ۲/۵۷±۰/۰۹$^{a}$ | ۰/۳۲±۰/۰۱$^{a}$ |

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد (انحراف از معیار ± میانگین)




**شکل ۱: تغییرات بیان نسبی ژن GH به بتااکتین در فیل‌ماهی تغذیه‌شده با بتائین و مولتی آنزیم**




**شکل ۲: تغییرات بیان نسبی ژن IGF1 به بتااکتین در فیل‌ماهی تغذیه شده با بتائین و مولتی آنزیم**

حروف کوچک اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین تیمارها را نشان می‌دهد.

## بحث

امروزه به‌علت افزایش مواد ضدمغذی در جیره استفاده از آنزیم‌های چندگانه امروزه امری رایج شده است. استفاده از مولتی آنزیم‌ها باعث هضم و سوخت‌وساز بهتر و درنتیجه افزایش رشد می‌گردد (Forouhar و همکاران، ۲۰۱۶). مطالعات نسبتاً زیادی درخصوص استفاده از آنزیم‌ها و مولتی آنزیم‌ها بر روی رشد و پارامتر های آن، صورت پذیرفته است. اثرات ترکیب آپسوزایم و بتائین و اثرات هر یک از آن‌ها به‌طور مجزا، بر شاخص‌های رشد و تغذیه و بیان ژن رشد بچه‌ماهی فیل نشان داد که با افزایش میزان بتایین اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های افزایش وزن، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه (SGR) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) و بیان ژن رشد در تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (P>۰/۰۵ ). اما با بالا رفتن میزان آپسوزایم از ۲۵۰ به ۵۰۰ میلی‌گرم در شرایط بدون بتایین افزایش معنی‌داری در میزان شاخص‌های افزایش وزن، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و بیان ژن رشد مشاهده شد (P<۰/۰۵) و هم‌چنین ضریب تبدیل غذایی به‌طور معنی‌داری بهبود یافت. شاخص بهترین عملکرد رشد (افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی) و بیان ژن‌های رشد در تیمارهای ترکیبی (۵۰۰ میلی‌گرم آپسوزایم و ۱ و ۱/۵٪ بتائین) بوده است (P<۰/۰۵).که می‌تواند به‌علت زیر باشد که یکی از

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131591



مهم‌ترین پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای آرابینوزایلان‌ها می‌باشند که بیش از ۷۵٪ آن‌ها در غلات از نوع غیرمحلول در آب بوده و با به دام انداختن مواد غذایی ارزشمندی نظیر متیونین، لیزین و پروتئین‌ها آن‌ها را از دسترس مکانیسم هضم و جذب در سیستم گوارش دور نگه داشته که زایلاناز موجود در آپسازایم توانایی شکستن این مولکول و آزادسازی این مواد را دارد. هم‌چنین ماهی‌ها و دیگر حیوانات تک معده‌ای آنزیم‌هایی مانند سلولاز، بتاگلوکاناز و بتازیلاناز که بر هضم پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای موثرند را ندارند. این پلی‌ساکاریدها جزیی از ساختار و دیواره غشای سلول‌های گیاهی می‌باشند که عملکرد بسیار بدی بر حیوانات برجا می‌گذارند. استفاده از آنزیم‌های خارجی می‌تواند یک راه موثر برای کاهش میزان مواد ضدتغذیه‌ای موجود در مواد گیاهی غذای ماهیان باشد. به‌علت طیف وسیع آنزیم‌ها در این محصول آپسازایم قادر است سبب افزایش کارایی جیره‌های حاوی اقلام متنوع غذایی شود. متیونین آزاد شده می‌تواند به‌عنوان جاذب در جیره غذایی عمل نماید و با بتایین در فرآیند تحریک کردن ماهی به افزایش مصرف غذا اثر هم افزایی داشته باشد. مطالعه حاضر هم‌سو با مطالعات انجام شده می‌باشد. Lin و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی تأثیر مولتی آنزیم بر عملکرد رشد در ماهیان هیبرید تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)، گزارش کردند که با افزایش سطوح آنزیم رژیمی سرعت رشد و راندمان خوراکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. Yildirim و Turan (۲۰۱۰)، در بررسی تأثیر مکمل‌های آنزیمی خارجی در رژیم‌های غذایی بر رشد و مصرف خوراک در گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) گزارش کردند که میزان رشد در ماهی‌های تغذیه‌شده با رژیم‌های مکمل آنزیمی نسبت به گروه‌های شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، هم‌چنین نسبت تبدیل غذا، نسبت پروتئین پروتئین و مصرف پروتئین خالص در تمام گروه‌های مصرف آنزیمی به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از شاهد بود. Mazandarani و همکاران (۲۰۰۹)، در مطالعه‌ای روی استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تأثیر آن بر شاخص گنادو سوماتیک گزارش کردند که استفاده از غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم ناتوزیم بر هر کیلوگرم غذا دارای بیش‌ترین میزان رشد و رسیدگی جنسی (GSI) بوده است. هم‌چنین آن‌ها بیان داشتند که تیمارهایی که با مولتی‌آنزیم ناتوزیم تغذیه شده بودند نسبت به تیمار شاهد رشد بیش‌تری داشتند. Zamini و همکاران (۲۰۱۲)، بر روی استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم و بتامانانز در جیره غذایی ماهی سالمون خزری (*Salmo trutta caspius*) و تاثیر آن بر فاکتورهای خونی و رشد گزارش کردند که میزان رشد، بهترین وزن نهایی، و استفاده خوراک در گروه دریافت‌کننده مکمل آنزیمی ۰/۵ گرم همیسل+ ۰/۵ گرم مولتی‌آنزیم ناتوزیم نسبت به گروه‌های دیگر بیش‌تر بود و نشان دادند که مکمل آنزیم باعث بهبود قابل توجهی در عملکرد رشد و استفاده از خوراک در ماهی قزل‌آلا شد. عادلیان و همکاران (۱۳۹۲)، در مطالعه‌ای که براستفاده مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره‌غذایی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) و تاثیر آن بر شاخص‌های رشد و فاکتورهای بیوشیمیایی داشتند بیان نمودند که استفاده ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مولتی آنزیم ناتوزیم بیش‌ترین افزایش رشد و شاخص‌های آن را داشته است.

در سال‌های اخیر استفاده از مواد جاذب جهت تحریک ماهی از طریق بو و مزه غذا افزایش یافته است و مطالعات متعددی برای اثبات این قضیه صورت گرفته است. بتائین ازجمله این مواد جاذب می‌باشد که جهت افزایش مصرف غذا توسط ماهی استفاده می‌شود مطالعات متعددی در این‌باره صورت گرفته است. Beklevik و همکاران (۲۰۰۱) در مطالعه‌ای که به بررسی اثرات جیره‌های حاوی DL آلانین و بتائین بر رشد و ترکیب بدن ماهی انگشت‌قد قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرداختند گزارش کردند که جیره حاوی بتایین باعث افزایش رشد شده است. Edivaldo و همکاران (۲۰۰۶)، در بررسی که برروی اثرات بتایین بر عملکرد رشد ماهی piauçu انجام دادند گزارش کردند که ماهی در طی آزمایش به‌طور قابل ملاحظه‌ای رشد کرد. Biswas و همکاران (۲۰۱۸)، در تحقیقی بر استفاده جاذب‌های شیمیایی و تاثیر آن‌ها بر رشد و بقا گربه‌ماهی هندی (*Ompok bimaculatus*) داشتند گزارش نمودند که بیش‌ترین رشد در تیمار تغذیه شده با رژیم غذایی بتائین همراه با آنزیم مونوفسفات مشاهده شد. طاعتی و صالحی (۱۳۹۷)، در مطالعه‌ای بر تاثیر بتائین و β-گلوکان به‌عنوان افزودنی به غذای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام دادند گزارش نمودند که تغذیه در گروه تحت درمان با مکمل بتایین باعث افزایش قابل توجهی در همه پارامترهای رشد در مقایسه با گروه شاهد ثبت شد. هم‌چنین، میزان زنده‌مانی بالاترین مقدار (۱۰۰٪) را در گروه‌های درمانی با بتای و β-گلوکان در مقایسه با گروه شاهد (۸۰٪)، نشان می‌دهد که سطح بالای بتایین باعث بهبود رشد و میزان زنده ماندن در کپورمعمولی می‌شود. Shankar و همکاران (۲۰۰۸)، در مطالعه‌ای که بر روی اثر بتایین به‌عنوان یک جاذب خوراکی بر رشد، زنده ماندن و مصرف خوراک در کپور آیینه‌ای هندی (*Labeo rohita*) انجام دادند دریافتند که رشد قابل ملاحظه بهتر، سرعت رشد خاص، بقاء، نسبت تغذیه غذا و نسبت کارایی پروتئین بیش‌تر در گروه با ۰/۲۵٪ بتایین تغذیه شده نسبت به گروه شاهد وجود داشت. Zakipour و همکاران (۲۰۱۲)، در مطالعه‌ای که بر اثر سطوح مختلف رژیم غذایی بتایین بر عملکرد رشد، بهره‌وری مواد غذایی و میزان بقا بچه‌ماهی انگشت‌قد سوف‌ماهی (*Sander lucioperca*) انجام دادند گزارش کردند که میزان افزایش وزن، سرعت رشد ویژه و

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131591



راندمان غذا با ۲٪ بتایین به بیومار به‌دست آمد و به این نتیجه رسیدند که بتایین می‌تواند طعم و جذب غذا را افزایش دهد و می‌تواند مناسب برای تغییر غذای بچه‌ماهی از رژیم طبیعی به رژیم غذایی مصنوعی باشد. Murthy و همکاران (۲۰۱۶)، در بررسی‌که بر اثر بتایین هیدرو کلراید به‌عنوان جاذب‌غذایی بر رشد، بقا و مصرف خوراک کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) داشتند گزارش کردند که رژیم غذایی حاوی ۰/۲۵ درصد بتایین، نرخ رشد، بقا و نسبت کارایی پروتئین بیش‌تری نسبت به گروه شاهد و بقیه تیمارها داشت. استفاده از مولتی آنزیم‌ها و جاذب‌ها به‌منظور بهبود رشد ماهیان نیاز به مطالعات بیش‌تری دارد.

گونه پرورشی، سن گونه، طول دوره پرورش، شرایط محیطی، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک گونه، ترکیب جیره‌های غذایی، میزان منابع پروتئینی گیاهی به‌کار رفته در جیره، نوع مکمل‌های آنزیمی و میزان سطح مورد استفاده می‌تواند بر نتایج مطالعات تأثیرگذار باشد. به‌نظر می‌رسد باتوجه به متفاوت بودن نتایج در برخی از پارامترهای رشد شرایط پرورشی و گونه ماهی می‌تواند تاثیرگذار باشد.

## منابع


۱. **حاجاتی، ح. و صفایی، ا.، ۱۳۹۶.** مباحث علمی و کاربردی استفاده از آنزیم‌ها در تغذیه طیور. انتشارات دانشگاه فردوسی. ۱۰۰ صفحه.

۲. **طاعتی، ر. و صالحی، م.، ۱۳۹۷.** مقایسه شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با سطوح مجزا و توأم مولتی آنزیم‌های تجاری. نشریه پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی. دوره ۶، شماره۲، صفحات ۱۳۴ تا ۱۱۹.

۳. **عادلیان، م.؛ ایمانپور، م.ر.؛ تقی‌زاده، و. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۵.** استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و اثرات آن بر شاخص‌های رشد و برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی خون. فصلنامه محیط زیست جانوری. سال ۸، شماره۲، صفحات ۲۰۷ تا ۲۱۴.

۴. **عادلیان، م.؛ ایمانپور، م.ر.؛ تقی‌زاده، و. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۲.** استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تأثیر آن بر شاخص گنادوسوماتیک (GSI). دومین همایش ملی شیلات و آبزیان ایران. دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس.

۵. **فروهر واجارگاه، م.؛ محمدی‌یلسونی، ا. و رضائی، ح.، ۱۳۹۵.** تاثیر استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم بر شاخص بقای کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با غلظت‌های مختلف سم آبامکتین. مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان. جلد ۵، شماره ۴، صفحات ۱۳ تا ۲۳.

۶. **محسنی، م.؛ پورکاظمی، م.؛ بهمنی، م.؛ پورعلی، ح. و علیزاده، م.، ۱۳۷۹.** پرورش گوشتی فیل‌ماهی در وان فایبر گلاس. پروژه مشترک با سازمان مدیریت و برنامه‌ریزی استان گیلان. ۳۰ صفحه.

7. **Afshar Mazandaran, N., 2002.** A practical guide to nutrition and food based medicinal aquatic Iran. Publication of light. 216 p.

8. **Beklevik, G. and Polat, A., 2001.** Effects of DL alanine and betaine supplemented diets on the growth and body composition of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1972). Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. Vol. 25, pp: 301-307.

9. **Biswas, P.; Patel, A. and Saha, H., 2018.** Effect of Dietary Incorporation of Chemo-Attractants on Growth and Survival during Seed Rearing of (*Ompok bimaculatus*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. 18, pp: 491-499.

10. **Edivaldo, B.N.; Rodrigo, E.B.; Robson, F.C. and Helton, C.D., 2006.** Effects of Betaine on the Growth of the Fish Piauçu *(Leporinus microcephalus)*. Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol. 49, pp: 757-762.

11. **Fekrandish, H.; Abedian, A.M. and Matinfar, A., 2010.** Influence of betaine and methionine in the diet for stimulating food intake of Indian white shrimp (*Fenneropenaeus indicus*). Pajouhesh and Sazandegi. Vol. 73, pp 136-147.

12. **Geraylou, Z.; Souffreau, C.; Rurangwa, E.; D'Hondt, S.; Callewaert, L.; Courtin, C.M. and Ollevier, F., 2012.** Effects of Arabinoxylan- Oligosaccharides (AXOS) on Juvenile Siberian Sturgeon (*Acipenser Baerii*) Performance, Immune.

13. **Lin, S.; Mai, K. and Tan, B., 2007.** Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia *(Oreochromis niloticus x O. aureus)*. Aquaculture Research. Vol. 38, pp: 1645-1653.

14. **Loguercio, C.; Federico, A.; Trappoliere, M.; Tuccillo, C.; De Sio, I.; Di Leva, B.; Niosi, M.; D'Auria, M.V.; Capasso, R. and Del Vecchio, B.C., 2007.** The effect of a silybinvitamin Ephospholipid complex on nonalcoholic fatty liver disease: a pilot study. Digestive Diseases and Science. Vol. 52, pp: 2387-2395.

15. **Mazandarani, M.; Taghizadeh, A.; Adelian, M. and Imanpour, M.R., 2009.** The use of Natuzyme multi-enzyme in common carp (*Cyprinus carpio*) diet and its effect on gonadosomatic index. Second National Conference on Fisheries and Aquaculture in Iran, Islamic Azad University, Bandar Abbas Branch, Iran.

16. **Murthy, H.; Manai, A. and Patil, P., 2016.** Effect of Betaine Hydrochloride as Feed Attractant on Growth, Survival and Feed Utilization of Common Carp (Cyprinus carpio). Journal of Aquaculture & Marine Biology. Vol. 4, No. 3, pp: 1-4.

17. **Oguz, M.N. and Goncuolu, F.K.O.E., 2011.** Kavuzu Al nm þ Arpan n B ld rc nlarda Performants ve Baz Kan Parametreleri Uzerine Etkisi.

18. **Ritz, C.W.; Hulet, R.M.; Self, B.B. and Denbow, D.M., 1995.** Growth and intestinal morphology of male turkeys as influenced by dietary supplementation of amylase and xylanase. Poultry science. Vol. 74, No. 8, pp: 1329-1334.

19. **Safari, R.; Hoseinifar, S.H.; Nezhadmoghadam, SH. and Jafar Node, A., 2016.** Transciptomic study of mucosal immune, antioxidant and growth related genes and non-specific immune response of common carp (*Cyprinus carpio*)

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131591



fed dietary Ferula (*Ferula assafoetida*). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 55, pp: 242-248.

20. **Shankar, R.; Shivananda Murthy, H.; Prakash, P. and Thanuja, K., 2008.** Effect of Betaine as a Feed Attractant on Growth, Survival, and Feed Utilization in Fingerlingsof the Indian Major Carp *(Labeo rohita).* The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh. Vol. 60, No. 20, pp: 95-99.

21. **Soltan, M.A., 2009.** Effect of Dietary Fish Meal Replacement by Poultry By-Product Meal with Different Grain Source and Enzyme Supplementation on Performance, Feces Recovery, Body Composition and Nutrient Balance of Nile Tilapia. Pakistan Journal of Nutrition. Vol. 8, pp: 395-407.

22. **Soudagar, M.; Imanpour, M.R. and Hoseinifar, S., 2007.** Use of prebiotic optimum (Ascozhen or Vanazhen) in the diet of Baby beluga breeding (*Huso huso*) and its effects on growth and survival factor. Journal of Marine Science of nor. Vol. 3, pp: 41-46.

23. **Sudagar, M.; Azari Takami, Gh.; Pnomarev, C.A.; Mahmoudzadeh, H.; Abedian, A., and Hosseini, S.A., 2005.** The effects of different dietary levels of betaine and methionine as attractant on the growth factor and survival rate of juvenile beluga (*Huso huso*). Iranian Scientific Fisheries Journal. Vol. 14, No. 2, pp: 41-50.

24. **Yildirim, Y.B. and Turan, F., 2010.** Effects of Exogenous Enzyme Supplementation in Diets on Growth and Feed Utilization in African Catfish *(Clarias gariepinus)*. Journal of Animal and Veterinary Advances. Vol. 2, pp: 327-331.

25. **Zakipour Rahimabadi, E.; Akbari, M.; Arshadi, A. and Effatpanah, E., 2012.** Effect of different levels of dietary Betaine on growth performance, food efficiency and survival rate of pike perch (*Sander lucioperca*) fingerlings. Iranian Journal of Fisheries Sciences. Vol. 11, No. 4, pp: 902-910.

26. **Zamini, A.; Kanani, H.; Esmaeili, A.; Ramezani, S. and Zorie Zahara, S., 2012.** Effects of two dietary exogenous multi-enzyme supplementation, Natuzyme® and beta-mannanase (Hemicell®), on growth and blood parameters of Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*). Comparative Clinical Pathology. Vol. 55, pp: 1-6.

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.131591

Scientific Research Journal of Animal Environment Vol. 12, No. 4, Winter 2020

# Effect of dietary administration of betaine and Apsozyme multi enzyme on growth, indices and growth hormone gene (GH and IGF) in Great sturgeon (*Huso huso*)


- **Mohamad Homauni*:** Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- **Roghieh Safari:** Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- **Mohamad Reza Imanpour**: Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran


Received: April 2019 Accepted: July 2019

**Key words:** Multi-enzyme, Apsazyme, Betaine adsorbent, Growth, Growth gene


# Abstract

Enzymes and food attractants are the ingredients used to improve the nutritional status of fish in recent years. In this experiment, the effect of dietary administration of betaine and Natozim multi-enzyme on growth indices (Weight gain, SGR and FCR) and growth hormone gene expression (GH) in Great sturgeon (*Huso huso*) were investigated. For this purpose, 126 fish with an average weight of 32±3 gr, were fed diets supplemented with 3 different levels of 0, 1 and 1.5% in combination with 0, 250 and 500 mg/l for 8 weeks. At the end of the feeding trial, growth indices were assessed. RNA extracted from brain a liver, cDNA synthesized using Supreme script RTase kit and Real-time PCR were done using GH an IGF primers. Results showed no significant difference in growth indices and GH and IGF expression gene in fish fed betaine ($P>0.05$). However, with increasing the amount of Apsozyme multi-enzyme from 250 to 500 mg in the non-betaine condition, there was a significant increase ($P<0.05$) in the weight gain, specific growth factor, and growth gene expression, as well as the Food Conversion Rate. The best growth performance indices and growth gene expression were in combination treatments (500 mg of apsazymeand 1 and 1.5% betaine) ($P<0.05$). Regarding the results, it seems that the use of apsazymeand betaine can help to improve growth by eliminating the effects of anti-nutrients and attracting fish to foods.


* Corresponding Author's email: mohammadhomayouni7292@gmail.com