

"مقاله پژوهشی"

اثرات پکتین استخراج شده از پوست پرتقال بر کارایی رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی میگو پا سفید غربی (*litopenaeus vannamei*) (Boon, 1931)

حمیدرضا نصیری^۱، ولی اله جعفری^{۱*}، سید حسین حسینی فر^۱، محمد مازندرانی^۱، هن وان دوان^۲

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۲- گروه جانوران و آبزیان، دانشکده کشاورزی، دانشگاه چیانگ مای، چیانگ مای، تایلند

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۲/۲۲

چکیده

بررسی حاضر به منظور مطالعه اثر پکتین استخراج شده از پوست پرتقال به عنوان یک پری بیوتیک طبیعی بر شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی میگوی پا سفید غربی *Litopenaeus vannamei* طراحی و اجرا گردید. بدین منظور میگوها با میانگین وزنی ۳ گرم با چهار تیمار غذایی شامل: شاهد (بدون پکتین) و سه تیمار با سطوح مختلف ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد پکتین به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. وزن نهایی و شاخص رشد ویژه میگوی تغذیه شده با سطوح ۱ و ۱/۵ درصد به طور معنی داری از سایر تیمارها بالاتر بود ($p < 0/05$). بررسی آنزیم‌های گوارشی نظیر آمیلاز، پروتئاز و لیپاز نشان داد که گروه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف پکتین بیشترین میزان آنزیم‌های گوارشی را در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند ($p < 0/05$). نتایج به دست آمده حاکی از نقش پکتین به ویژه در سطح ۱/۵ درصد به عنوان یک پری بیوتیک طبیعی در تحریک رشد و بهبود وضعیت گوارشی بود.

کلمات کلیدی: پوست پرتقال، پکتین، میگوی پا سفید غربی، شاخص رشد و آنزیم‌های گوارشی.

مقدمه

با افزایش جمعیت کره زمین، نیاز به پروتئین حیوانی برای مصرف انسان نیز در حال افزایش است آبرزی پروری یکی از منابع مهم تامین پروتئین حیوانی بشمار می‌رود (Wang, 2007). علاوه بر این در نتیجه افزایش فرهنگ مصرف میگو پرورش این آبرزی طی چند دهه گذشته به یک صنعت مهم در سراسر جهان تبدیل شده است (Zheng & Wang, 2017). در این میان میگوی پاشید غربی با توجه به سازگاری با طیف وسیعی از شرایط محیطی، رشد سریع و ارزش اقتصادی بالا از گونه‌های با ارزش پرورشی به حساب می‌آید (Wang et al., 2015). این صنعت همواره با چالش‌های مختلفی مواجه بوده است هزینه خوراک یکی از عمده ترین چالش‌ها در پرورش میگو است که به‌طور معمول بیش از ۷۰٪ هزینه تولید را تشکیل می‌دهد همچنین مشکل مصرف کم غذا در میگو باعث بروز خسارت اقتصادی جدی در سراسر جهان شده است (Martinez-Cordova et al., 2002). بنابراین، از اهداف مهم صنعت آبرزی پروری و محققان این حوزه افزایش عملکرد رشد میگو و بهبود استفاده از خوراک است. تحقیقات متعددی تأیید کردند که استفاده از افزودنی‌های غذایی نظیر پری بیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها و سین بیوتیک‌ها به ابزاری برای بهبود عملکرد رشد، استفاده از خوراک و هضم مواد غذایی در جیره میگو تبدیل شده است (Kongnum & Niu ; Dong et al., 2013 ; Hongpattarakere 2012 et al., 2014) در این زمینه علاوه بر پری بیوتیک‌های شناخته شده مانند فروکتوالیگوساکاریدها و گالاکتوالیگوساکاریدها ترکیباتی مانند پکتین،

آرایینوزایلان و پلی‌فنول نیز به عنوان پری بیوتیک مطرح هستند.

پکتین یک هترو پلی‌ساکارید پیچیده است و از پلی‌مرهای غنی از D-گالاکتورونیک اسید (GalA) تشکیل شده و حاوی مقادیر قابل توجهی از L-رامنوز (Rha)، D-آرایینوز (Ara) و D-گالاکتوز و ۱۳ مونوساکارید بلند زنجیره می‌باشد (Fissore et al., 2003; Vincken et al., 2011). به دلیل دارا بودن ویژگی‌های ساختاری مناسب نظیر جرم مولی، محتوای قند طبیعی، تناسب درجه متیلاسیون و استیلاسیون (DM و DA) کاربردهای مختلفی دارد (Sila et al., 2011; Willats et al., 2006). گزارش‌های موجود مؤید تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه (SCFA) در نتیجه تجزیه الیگوساکاریدهای استخراج شده از پکتین توسط گروهی از باکتری‌ها می‌باشد (Gullón et al., 2013). SCFA اثرات مثبتی بر سلامت از جمله کاهش تکثیر باکتری‌های مضر دارند (Jun et al., 2006). پوست مرکبات و پالپ سیب منابع عمده پکتین هستند همچنین به فراوانی در فراورده‌های زراعی مانند پالپ چغندر قند، پوست هلو یا پالپ انگور و کدو تنبل یافت می‌شود. به میزان کمتر نیز از محصولات جانبی تولید نشاسته از سیب‌زمینی و تولید روغن از آفتابگردان استخراج می‌گردد (Ovodov, 2009). اخیراً ثابت شده است که پکتین و مشتقات آن به عنوان یک پری بیوتیک طبیعی مطرح است (Gómez et al., 2013). مطالعات انجام شده بیانگر این است که پکتین یک فیبر محلول است که اثرات فیزیولوژیکی مانند کاهش جذب گلوکز (Grundy et al., 2016) و تأخیر در تخلیه معده (Schwartz et al., 1982) ایفا می‌کند. همچنین بهبود پاسخ‌های ایمنی در نتیجه استفاده از

وزن، نرخ رشد ویژه، و فعالیت پروتئاز در کبد و فعالیت آمیلاز در روده گروه تغذیه شده با جیره حاوی پر-بیوتیک بود.

با توجه به موارد ذکر شده مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات پکتین استخراج شده از پوست پرتقال بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی میگوی پا سفید غربی (*litopenaeus vannamei*) طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

استخراج پکتین

پوست پرتقال در دمای ۶۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید سپس با استفاده از آسیاب پودر و با الک با مش ۴۰ غربال گردید. استخراج پکتین طبق روش Maran و همکاران (۲۰۱۳) با اصلاحات جزئی انجام گردید. به این صورت که به ۱ گرم پودر پوست پرتقال ۱۶/۹ میلی‌لیتر آب مقطر با pH ۱/۴ اضافه کرده (pH با استفاده از اسید سولفوریک تنظیم گردید) و ترکیب گردید. سپس بشر حاوی پودر پوست پرتقال و آب مقطر را در ماکروویو قرار داده و ۱۶۹ ثانیه تحت تابش قرار گردید. محلول حاصل در دمای اتاق سرد شده و به مدت ۵ دقیقه در دمای چهار درجه (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ گردید. سوپرناتانت را جدا کرده و به سرعت، اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه کرده و ۳ مرتبه با اتانول ۹۵ درصد شسته شده تا منو و دی-ساکاریدها حذف گردد در انتها تا رسیدن به وزن ثابت در دمای ۵۰ درجه خشک گردید.

پکتین به دست آمده از پوست لیمو در سایر جانوران مشاهده شده است (Khranova et al., 2009).

مطالعات انجام شده در خصوص به کارگیری پکتین به عنوان یک پری‌بیوتیک طبیعی در آبزیان به ویژه میگو محدود بوده و مد نظر قرار دادن این محدودیت در مطالعات آتی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. اگرچه اثرات به کارگیری مکمل‌های غذایی در مطالعات انجام شده مورد تایید قرار گرفته اما تحقیقات در زمینه اثرات پری بیوتیکی پکتین مشتق شده از مرکبات در زمینه آبی‌پروری در ابتدای راه خود قرار دارد و بسیاری از جنبه‌های عملی استفاده از آن به پری-بیوتیک طبیعی در آبی‌پروری ناشناخته باقی مانده است. Van Doan و همکاران (۲۰۱۸) اثرات سطوح مختلف پکتین استخراج شده از پوست پرتقال را بر ماهی تیلپیا (*Oreochromis niloticus*) بررسی و گزارش کردند که استفاده از سطوح مختلف پکتین در جیره به عنوان یک پری بیوتیک طبیعی منجر به افزایش میزان لیزوزیم، فعالیت پراکسیداز موکوس، پراکسیداز، لیزوزیم، فاگوسیتوز سرم، فعالیت کمپلمان و بهبود شاخص‌های رشد گردید. استفاده از بتا مانان الیگوساکارید حاصل از هیدرولیز آنزیمی پالپ نارگیل به عنوان یک پریبیوتیک طبیعی در جیره میگوی پا سفید غربی *Litopenaus vannamei* نیز منجر به افزایش باکتری‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر در روده و بهبود شاخص‌های رشد گردیده بود (Cuong et al., 2013). Song و همکاران (۲۰۱۱) نیز در پژوهشی اثرات مکمل غذایی Bio-MOS[®] به عنوان منبع مانان الیگوساکارید (MOS) بر رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی شاه میگوی آب شیرین *Cherax destructor* بررسی کردند نتایج بیانگر افزایش پارامترهای رشد نظیر

تامین میگوها و طراحی آزمایش

تعداد ۱۸۰ قطعه میگو با میانگین وزنی ۳ گرم از مجتمع پرورش میگو شهید صنعتی گواتر-چابهار تأمین و به یکی از بخش های کارگاه آبرزی پروری مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور چابهار منتقل گردید. میگوها به مدت ۲ روز قبل از شروع آزمایش جهت سازگاری با شرایط جدید نگهداری شدند. در طی دوره سازگاری میگوها با استفاده از غذای شاهد، ۲ وعده در روز تغذیه شدند. غذادهی به میگوها به صورت دستی با چهار تیمار غذایی شامل تیمار شاهد (فاقد پکتین)، تیمار محتوی سطوح مختلف پکتین به جیره پایه ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد که بر اساس میانگین وزن بدن در دو، سه و چهار نوبت صورت گرفت.

کنترل کمی و کیفی محیط پرورش

به منظور تامین کیفیت مطلوب در محیط پرورش میگوها، فاکتورهای آب نظیر دما، شوری، pH و اکسیژن محلول آب به طور مستمر و منظم سنجش و ثبت می گردید. هوادهی آب وانها از طریق سنگ هوا متصل به کمپرسور مرکزی انجام می شد. برای جلوگیری از آلودگی و تخریب کیفیت آب، بصورت مستمر دیواره های داخلی و کف وانها سیفون و رسوب زدایی می شدند. به علاوه برای خارج شدن فضولات، هر دو روز یکبار آب وانها به میزان ۳۰ تا ۵۰ درصد تعویض آب انجام می شد.

زیست سنجی و بررسی پارامترهای رشد و بقا:

جهت بررسی اثر افزودن پکتین مصرفی در غذای میگوی پافسید غربی بر رشد آن ها، میانگین وزن بدن، میانگین رشد روزانه و نرخ رشد ویژه هر ۱۰ روز یکبار

اندازه گیری و همچنین درصد بازماندگی در پایان دوره ۶۰ روزه بر اساس فرمول های زیر محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم های گوارشی

جهت بررسی فعالیت آنزیم های گوارشی ۱۰ عدد میگو نمونه برداری و روده خارج شده و محتویات آن خالی گردید، نمونه روده ها با آب مقطر توسط دستگاه هموژنایزر هموژن گردید. مخلوط به دست آمده سانتریفیوژ گردیدند. اندازه گیری فعالیت آنزیم آمیلاز طبق روش پیشنهاد شده توسط Coccia و همکاران (۲۰۱۱) انجام گردید. در این روش از محلول نشاسته در بافر تریس نمکی به عنوان سوبسترا استفاده گردید و خوانش جذب نمونه ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر بود. اندازه گیری فعالیت آنزیم پروتئاز طبق روش پیشنهاد شده توسط Walter در سال ۱۹۸۴ انجام گرفت. در این روش از محلول آزوکائین ۱ درصد در بافر تریس نمکی به عنوان سوبسترا استفاده گردید. واکنش آنزیمی با افزودن تری کلرواستیک اسید ۱۲ درصد متوقف و به مدت ۱ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید و بعد از جداسازی فاز بالایی میزان جذب در طول موج ۲۸۰ نانومتر قرائت گردید (Walter, 1984). سنجش فعالیت آنزیم لیپاز نیز طبق روش پیشنهاد شده توسط Lopez-Lopez و همکاران در سال ۲۰۰۴ انجام گرفت. در این آزمایش از α -نفیتل کاپریلات به عنوان سوبسترا استفاده شد. میزان جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید (López-López et al., 2004). بررسی میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز به روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از کیت تهیه شده از شرکت پارس آزمون و طبق

روشکار پیشنهاد شده توسط شرکت تولید کننده کیت و اختلاف جذب نوری طی ۳ دقیقه انجام گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA انجام شد. لازم به ذکر است که داده‌هایی که به شکل درصدی بودند پیش از انجام آنالیز به صورت آرک سینوس (ARC sin) در آورده شدند. جهت مقایسه میانگین بین تیمارها و نیز تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ($p < 0.05$) از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan's multiple-range test) استفاده گردید. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۳)، و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel, 2007 در محیط ویندوز انجام گردید.

نتایج

پارامترهای کیفی آب

پارامترهای کیفی آب در طول دوره ۶۰ روزه به صورت روزانه بررسی و ثبت می‌گردید میانگین شوری آب در طول دوره $37/23 \pm 0/62$ قسمت در هزار، غلظت اکسیژن محلول $5/52 \pm 0/20$ میلی‌لیتر در لیتر، دمای آب $29/08 \pm 0/39$ درجه سانتی‌گراد و pH آب نیز $8/34 \pm 0/12$ بود.

شاخص‌های رشد

جدول ۱ نشان دهنده اثرات تغذیه میگوی پا سفید غربی با پکتین بر شاخص‌های رشد می‌باشد. نتایج نشان دهنده افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد نظیر افزایش وزن بدن، میانگین رشد روزانه و نرخ رشد ویژه در گروه‌های تغذیه شده با جیره حاوی سطوح ۱ و ۱/۵ درصد پکتین بود ($p > 0/05$). که این دو سطح از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را با گروه شاهد و گروه تغذیه شده با سطح ۰/۵ درصد نشان می‌دهد.

جدول ۱: مقایسه برخی شاخص‌های رشد و بازماندگی میگوی پا سفید غربی تغذیه شده با پکتین.

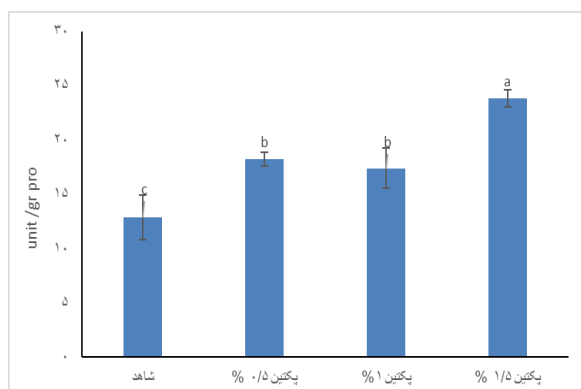
شاخص	پکتین ۰/۵ درصد	پکتین ۱ درصد	پکتین ۱/۵ درصد
میانگین وزن ابتدای دوره (گرم)	$3/00 \pm 0/00^a$	$3/00 \pm 0/00^a$	$3/00 \pm 0/00^a$
میانگین وزن انتهای دوره (گرم)	$12/53 \pm 0/15^b$	$12/70 \pm 0/17^b$	$15/30 \pm 0/36^a$
افزایش وزن (گرم)	$9/53 \pm 0/15^b$	$9/70 \pm 0/20^b$	$12/30 \pm 0/36^a$
شاخص رشد ویژه	$2/38 \pm 0/03^b$	$2/40 \pm 0/03^b$	$2/71 \pm 0/04^a$
میانگین رشد روزانه (گرم)	$0/16 \pm 0/00^b$	$0/16 \pm 0/00^b$	$0/20 \pm 0/01^a$
درصد بازماندگی	$85/33 \pm 1/52^a$	$85/00 \pm 0/32^a$	$85/00 \pm 4/00^a$

اعداد ($\pm$ SD میانگین) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p < 0/05$).

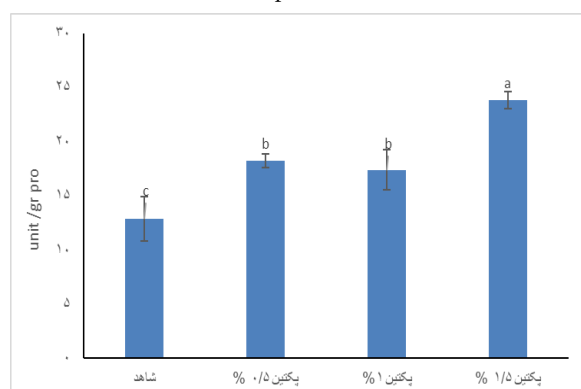
آنزیم‌های گوارشی

میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در گروه‌های تغذیه شده با پکتین در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری پیدا کرده بود ($p < 0/05$). در خصوص میزان فعالیت

پروتئاز نیز نتایج بیانگر افزایش فعالیت در گروه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف پکتین بود (شکل ۱) که این میزان از نظر آماری در مقایسه با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود ($p < 0/05$). در حالیکه بین



شکل ۳: اثر پکتین بر فعالیت لیپاز میگوی پا سفید غربی؛ ستون‌های نشانه‌گذاری شده با حروف لاتین متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p < 0.05$).



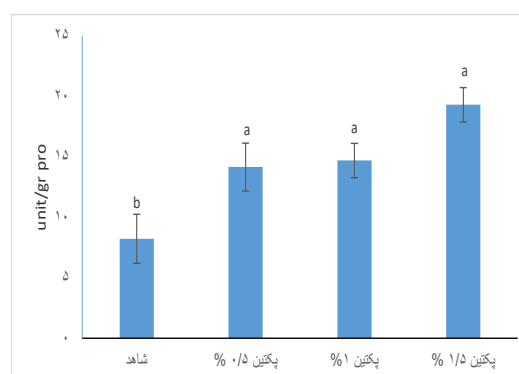
شکل ۴: اثر پکتین بر فعالیت آلکالین فسفاتاز میگوی پا سفید غربی؛ ستون‌های نشانه‌گذاری شده با حروف لاتین متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p < 0.05$).

بحث

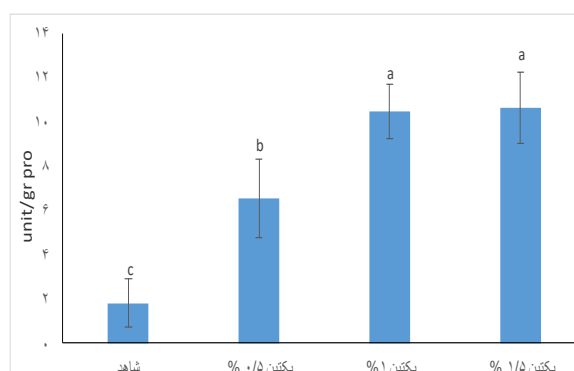
نتایج پژوهش حاضر بیانگر بهبود شاخص‌های رشد نظیر افزایش وزن بدن و میانگین رشد روزانه در میگوهای تغذیه‌شده با سطوح ۱ و ۱/۵ درصد پکتین بود اما تیمار ۰/۵ درصد تحت تأثیر مصرف پکتین قرار نگرفته بودند. همچنین درصد بقا نیز تحت تأثیر مصرف پکتین قرار نگرفت.

در سال‌های اخیر استفاده از پریوتیک‌ها به عنوان جایگزینی برای روش‌های درمانی شیمیایی مطرح شده است که به نظر می‌رسد می‌تواند بسیاری از مشکلات را مرتفع سازد. که این امر از طریق تخمیر انتخابی به وسیله

گروه‌های تغذیه‌شده با سطوح ۱ و ۱/۵ درصد پکتین از نقطه نظر میزان فعالیت آنزیم پروتئاز از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p < 0.05$). بیشترین میزان فعالیت آنزیم لیپاز مربوط به گروه تغذیه‌شده با سطح ۱/۵ درصد پکتین بود که از نظر آماری نیز این میزان اختلاف معنی‌داری با گروه‌های تغذیه‌شده با سطوح ۰/۵ و ۱ درصد پکتین داشت ($p < 0.05$). در حالی که میزان فعالیت آنزیم مذکور در گروه‌های تغذیه‌شده با پکتین ۰/۵ و ۱ درصد علی‌رغم داشتن تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($p > 0.05$).



شکل ۱: اثر پکتین بر فعالیت آمیلاز میگوی پا سفید غربی؛ ستون‌های نشانه‌گذاری شده با حروف لاتین متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p < 0.05$).



شکل ۲: اثر پکتین بر فعالیت پروتئاز میگوی پا سفید غربی؛ ستون‌های نشانه‌گذاری شده با حروف لاتین متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p < 0.05$).

باکتری‌های بالقوه مفید و تغییر ترکیب میکروبیوتای روده‌ای به سمت ترکیبی سالم‌تر صورت می‌گیرد (Kolida et al., 2002). از این رو استفاده از مکمل‌های غذایی به منظور کنترل بیماری‌ها و بهبود رشد در آبی‌پروری گسترش یافته است (Eshaghzadeh et al., 2015; Llewellyn et al., 2014). در میان مکمل‌های غذایی پریبیوتیک‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند چرا که نتایجی مبتنی بر تغییر و بهبود فاکتورهای ایمنی (Hoseinifar et al., 2011b) و رشد (Hoseinifar et al., 2011a) گزارش شده است. به همین منظور در پژوهش حاضر از پکتین استخراج شده از پوست پرتقال در جیره میگوی پا سفید غربی استفاده گردیده است.

پژوهش‌های انجام شده در خصوص تاثیر پریبیوتیک‌ها بر سخت پوستان نیز نتایج مختلفی در خصوص میزان رشد ارائه داده‌اند به گونه‌ای که گزارش شده است که مصرف پری بیوتیک مانان‌الیگوساکارید (Mazlum et al., 2011) و بتا مانان الیگوساکارید تولید شده از طریق هیدرولیز آنزیمی پالپ نارگیل (Cuong et al., 2013) به عنوان یک پریبیوتیک طبیعی منجر به بهبود افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی و مصرف جیره به ترتیب در *Astacus leptodactylus* و *Litopenaus vannamei* گردید. بهبود در شاخص‌های رشد در نتیجه مصرف پکتین در جیره به دلیل نقش پری بیوتیکی پکتین می‌باشد. پری بیوتیک‌ها اغلب در دسته الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم قرار می‌گیرند. الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم موجود در جیره غذایی باعث تحریک رشد باکتری‌های مفید روده می‌شوند. این الیگوساکاریدها به دلیل ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاص در برابر فرآیند

گوارش مقاومت کرده و تنها توسط برخی باکتری‌های بی‌هوازی موجود در دستگاه گوارش قابلیت تجزیه شدن را دارند. این باکتری‌ها شامل بیفیدوباکترها، لاکتوباسیلوس و بسیاری از باکتری‌های اسید لاکتیک هستند که قادرند از طریق تخمیر از الیگوساکاریدها تغذیه نموده و در نهایت اثرات مفیدی برای میزبان به همراه داشته باشند. علی‌رغم نتایج ارائه شده در خصوص تاثیر مثبت مصرف پریبیوتیک‌ها بر شاخص‌های رشد Li و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که استفاده از فرکتوالیگوساکارید در جیره *L.vannamei* تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر وزن، ضریب تبدیل غذایی و بقای میگو نداشت.

بررسی آنزیم‌های گوارشی در پایان دوره نشان دهنده افزایش میزان فعالیت آنزیم آمیلاز، پروتئاز، لیپاز و آلکالین فسفاتاز در گروه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف پکتین بود. تعدیل فعالیت آنزیم‌های گوارشی به دنبال مصرف پروبیوتیک، پریوتی و سین‌بیوتیک اخیرا در انواع مختلفی از ماهی‌ها و صدف‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (Hoseinifar et al., 2011a). با این حال بیشترین مطالعات انجام شده در زمینه سخت پوستان متمرکز بر تاثیر پروبیوتیک‌ها بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌باشد (Nimrat et al., 2013; Talpur et al., 2013; Yu et al., 2009). پژوهش انجام شده توسط Nedaei و همکاران در سال ۲۰۱۹ بیانگر تاثیر مثبت گالاکتوالیگوساکارید بر فعالیت لیپاز و آمیلاز *As. leptodactylus* بود در حالی که اثر معنی‌داری بر فعالیت پروتئاز و آلکالین فسفاتاز نداشت. در پژوهشی دیگر نیز گزارش شد که پریبیوتیک گالاکتوالیگوساکارید در جیره میگوی پاسفید غربی *L.vannamei* اثر معنی‌داری بر فعالیت پروتئاز،

- in aquaculture. Veterinary microbiology, 114, 173-186.
2. Coccia, E., Varricchio, E., and Paolucci, M., 2011. Digestive enzymes in the crayfish *Cherax albidus*: polymorphism and partial characterization. International Journal of Zoology, 1-9.
 3. Cuong, D. B., Dung, V. K., Hien, N. T. T., and Thu, D. T., 2013. Prebiotic evaluation of copra-derived mannooligosaccharides in white-leg shrimps. Journal of Aquaculture Research & Development, 4(5), 1-5.
 4. De, B.C., Meena, D., Behera, B., Das, P., Mohapatra, P.D., and Sharma, A., 2014. Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. Fish Physiology and Biochemistry, 40, 921-971.
 5. Dong, H.B., Su, Y.Q., Mao, Y., You, X.X., Ding, S.X., and Wang, J., 2013. Dietary supplementation with *Bacillus* can improve the growth and survival of the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* in high-temperature environments. Aquaculture International, 22, 607-617.
 6. Eshaghzadeh, H., Hoseinifar, S.H., Vahabzadeh, H., and Ringø, E., 2015. The effects of dietary inulin on growth performances, survival and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. Aquaculture Nutrition, 21(2), 242-247.
 7. Fissore, E. N., Rojas, A. M., and Gerschenson, L. N., 2012. Rheological performance of pectinenriched products isolated from red beet (*Beta vulgaris* L. var. conditiva) through alkaline and enzymatic treatments. Food Hydrocolloids, 26, 249-260.
 8. Gómez, B., Gullón, B., Yáñez, R., Parajó, J. C., and Alonso, J. L., 2013. Pectin oligosaccharides from lemon peel wastes: Production, purification, and chemical characterization. Journal of agricultural and food chemistry, 61(42), 10043-10053.
 9. Grundy, M. M. I., Edwards, C. H., Mackia, A. R., Gidley, M. J., Butterworth, P. J., and Ellis, P. R., 2016. Revaluation of the mechanisms of dietary fibre and implications for macronutrient bioaccessibility, digestion and postrandial

آمینوپپتیداز و بتا گالاکتوسیداز نداشت (Huynh et al., 2018). فعالیت آنزیم‌های گوارشی را احتمالاً می‌توان به بهبود جمعیت باکتری‌های مفید نظیر اسید لاکتیک نسبت داد. همچنین احتمالاً افزایش باکتری‌های مفید در نتیجه مصرف پریبیوتیک می‌تواند آنزیم‌های خارج سلولی، فاکتورهای محرک رشد که فعالیت آنزیم‌های گوارشی درون سلولی را تحریک کرده و در نتیجه باعث افزایش اشتها، هضم و جذب مواد مغذی گردیده و عملکرد رشد را تسهیل می‌بخشند، گردد (De et al., 2014; Balcázar et al., 2006). با این حال مطالعات گسترده تری جهت ارزیابی هضم مواد مغذی مورد نیاز است تا درک بهتری از مکانیسم اثرگذاری پریبیوتیک‌ها بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی صورت پذیرد.

در مجموع با توجه به این که در پژوهش حاضر پکتین استخراج شده از پوست پرتقال بر پارامترهای رشد و آنزیم‌های گوارشی تاثیر مثبت گذاشته است می‌توان نتیجه گرفت که پکتین با توجه به مکانیسم‌هایی که پیش‌تر به آن اشاره شد می‌تواند به عنوان یک پریبیوتیک طبیعی جهت تحریک رشد و بهبود وضعیت گوارش مورد بررسی میدانی و بیشتر قرار گیرد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نمایم.

منابع

1. Balcázar, J.L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunningham, D., Vendrell, D., and Múzquiz, J.L., 2006. The role of probiotics

- Vibrio harveyi*. Fish Shellfish Immunol 32, 170–177.
18. Li, P., Burr, G. S., Gatlin III, D. M., Hume, M. E., Patnaik, S., Castille, F. L., and Lawrence, A. L., 2007. Dietary supplementation of short-chain fructooligosaccharides influences gastrointestinal microbiota composition and immunity characteristics of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in a recirculating system. The Journal of nutrition, 137(12), 2763-2768.
 19. Llewellyn, M.S., Boutin, S., Hoseinifar, S.H., and Derome, N. 2015. Teleost microbiomes: the state of the art in their characterization, manipulation and importance in aquaculture and fisheries. Frontiers in Microbiology. 1-17.
 20. López-López, S., Nolasco, H., and Vega-Villasante, F., 2003. Characterization of digestive gland esterase-lipase activity of juvenile redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. Comparative Biochemistry and Physiology, 135(2), 337–347.
 21. Maran, J. P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., & Sridhar, R., 2013. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. Carbohydrate polymers, 97(2), 703-709.
 22. Martinez-Cordova, L.R., Campaña-Torres, A., and Porchas-Cornejo, M.A., 2002. The effects of variation in feed protein level on the culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) in low-water exchange experimental ponds. Aquaculture Research, 33, 995–998.
 23. Mazlum, Y., Yilmaz, E., Genç, M.A., and Guner, O. 2011. A preliminary study on the use of mannan oligosaccharides (MOS) in freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 juvenile diets. Aquaculture International, 19, 111–119.
 24. Nedaei, S., Noori, A., Valipour, A., Khanipour, A. A., and Hoseinifar, S. H. 2019. Effects of dietary galactooligosaccharide enriched commercial prebiotic on growth performance, innate immune response, stress resistance, intestinal microbiota and digestive enzyme activity in Narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* metabolism. British journal of Nutrition, 116 (5), 816-833.
 10. Gullón, B., Gómez, B., Martínez-Sabajanes, M., Yáñez, R., Parajó, J. C., and Alonso, J. L., 2013. Pectic oligosaccharides: Manufacture and functional properties. Trends of Food Science & Technology, 30, 153–161.
 11. Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., and Merrifield, D. L., 2011a. The effects of dietary inactive brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* on the growth, physiological responses and gut microbiota of juvenile beluga (*Huso huso*). Aquaculture, 318, 90-94.
 12. Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D. L., Amiri, B. M., Yelghi, S., and Bastami, K. D., 2011b. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry, 37, 91-96.
 13. Huynh, T. G., Chi, C. C., Nguyen, T. P., Tran, T. T. T. H., Cheng, A. C., and Liu, C. H., 2018. Effects of synbiotic containing *Lactobacillus plantarum* 7–40 and galactooligosaccharide on the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture research, 49(7), 2416-2428.
 14. Jun, H. I., Lee, C. H., Song, G. S., and Kim, Y. S., 2006. Characterization of the pectic polysaccharides from pumpkin peel. LWT-Food Science and Technology, 39, 554–561.
 15. Khramova, D. S., Popov, S. V., Golovchenko, V. V., Vityzev, F. V., Paderin, N. M., and Ovodov, Y. S., 2009. Abrogation of the oral tolerance to ovalbumin in mice by citrus pectin, Nutrition (Burbank, Los Angeles county, Calife). 25 (2), 226–232.
 16. Kolida, S., Tuohy, K., and Gibson, G. R., 2002. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. British Journal of Nutrition. 87, S193-S7.
 17. Kongnum, K., and Hongpattarakere, T. 2012. Effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with

32. Vincken, J. P., Schols, H. A., Oomen, R. J. F. J., McCann, M. C., Ulvskov, P., and Voragen, A. G. J., 2003. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiology*, 132, 1781-1789.
33. Walter, H. E., 1984. Proteinases: Methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates in: *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. 5, Bergmeyer HU, Bergmeyer J.
34. Wang, Y. B., 2007. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 269(1-4), 259-264.
35. Wang, Y., Li, Z., Li, J., Duan, Y.F., Niu, J., and Wang, J., 2015. Effects of dietary chlorogenic acid on growth performance, antioxidant capacity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* under normal condition and combined stress of low-salinity and nitrite. *Fish Shellfish Immunology*, 43, 337-345.
36. Willats, W. G. T., Knox, P., and Mikkelsen, J. D., 2006. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 97-104.
37. Yu, M. C., Li, Z. J., Lin, H. Z., Wen, G. L., and Ma, S., 2009. Effects of dietary medicinal herbs and *Bacillus* on survival, growth, body composition, and digestive enzyme activity of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, 17, 377-384.
38. Zheng, C. N., and Wang, W., 2017. Effects of *Lactobacillus pentosus* on the growth performance, digestive enzyme and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture Research*, 48(6), 2767-2777.
- Eschscholtz, 1823). *Aquaculture*, 499, 80-89.
25. Nimrat, S., Tanutpongpalin, P., Sritunyalucksana, K., Boonthai, T., and Vuthiphandchai, V., 2013. Enhancement of growth performance, digestive enzyme activities and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) postlarvae by potential probiotics. *Aquaculture international*. 21, 655-666.
26. Niu, Y., Defoirdt, T., Baruah, K., Van de Wiele, T., Dong, S., and Bossier, P. 2014. *Bacillus* sp. LT3 improves the survival of gnotobiotic brine shrimp (*Artemia franciscana*) larvae challenged with *Vibrio campbellii* by enhancing the innate immune response and by decreasing the activity of shrimp-associated vibrios. *Veterinary Microbiology*, 173, 279-288.
27. Ovodov, Y. S., 2009. Current views on pectin substances. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 35, 269-284.
28. Schwartz, S.E., Levine, R.A., Singh, A., Scheidecker, J.R., and Track, N.S. 1982. Sustained pectin ingestion delays gastric emptying. *Gastroenterology*, 83 (4), 812-817.
29. Sila, D. N., Van Buggenhout, S., Duvetter, T., Fraeye, I., De Roeck, A., Van Loey, A., and Hendrickx, M., 2009. Pectins in processed fruits and vegetables: Part II-structure function relationships. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(2), 86-104.
30. Talpur, A. D., Ikhwanuddin, M., Abdullah, M. D. D., and Bolong, A. M. A., 2013. Indigenous *Lactobacillus plantarum* as probiotic for larviculture of blue swimming crab, *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758): effects on survival, digestive enzyme activities and water quality. *Aquaculture*. 416, 173-178.
31. Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Elumalai, P., Tongsiri, S., Chitmanat, C., Jaturasitha, S., and Doolgindachbaporn., S., 2018. Effects of orange peels derived pectin on innate immune response, disease resistance and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured under indoor biofloc system. *Fish & shellfish immunology*, 80, 56-62.