



The effect of ethanolic extract of summer savory (*Satureja hortensis*) on growth indices and expression of appetite and growth genes in zebrafish (*Danio rerio*)

Fatemeh Gharibi Jooybari¹, Masoumeh Bahrekazemi², Mojtaba Keshavarz³
Somayeh Bahram⁴, Ruhollah Javadian⁵

1. Department of Fisheries, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran. elhamgharibi13644@gmail.com

2. Corresponding author, Department of Fisheries, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran. Email: 2721116711@iau.ir

3. Department of Fisheries, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran. Email: 2161696602@iau.ir

4. Department of Fisheries, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran. Email: 2141507839@iau.ir

5. Department of Fisheries, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran. Email: 2142081029@iau.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received 21 May 2026

Revised 10 July 2026

Accepted 2 August 2026

Keywords:

Growth parameters,

Zebra fish,

Savory extract,

Growth genes.

ABSTRACT

Plants contain active phytochemicals that can affect metabolism and gene expression pathways and improve aquatic animals' growth. So, in this study, to investigate the effect of adding savory extract (*Satureja hortensis*) to the diet of zebra fish (*Danio rerio*), 240 fish with an average weight of 65.37 ± 5.9 mg were fed diets containing 0.5, 1, and 2% ethanolic savory extract for 8 weeks. The control group was also fed only the basal diet. The results showed that adding savory extract to the diet improved growth indices compared to the control group. The highest final weight, weight gain percentage, and specific growth rate were observed in the treatment receiving 2% extract, which differed significantly from the other groups ($P < 0.05$). Although food intake increased significantly with increasing savory extract, the difference in feed conversion ratio was not significant ($P > 0.05$). Examination of the expression levels of genes related to appetite and growth showed that a relative increase in the expression of all three genes, ghrelin, growth hormone (GH), and insulin-like growth factor (IGF-1), was observed in fish fed savory extract, but this increase was only significant in the case of IGF-1 compared to the control group ($P < 0.05$). Therefore, a savory ethanolic extract at up to 2% improved growth indices in zebrafish by increasing appetite and food intake and by regulating downstream metabolic pathways of the growth axis, thereby increasing IGF-1 expression. This result can be generalized to other species due to the similarity between zebrafish growth and metabolic pathways and those of other species.

Cite this article: Gharibi Jooybari, F., Bahrekazemi, M., Keshavarz, M., Bahram, S., & Javadian, R. (2026). The effect of ethanolic extract of summer savory (*Satureja hortensis*) on growth indices and expression of appetite and growth genes in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Aquaculture Sciences*, 14(1), 69-79.



© Author(s) retain the copyright.

Publisher: Iranian Aquaculture Society.

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

The addition of plants to aquatic feed is an important topic in modern nutrition and aquaculture. Today, researchers are no longer focusing solely on growth and feed conversion but are also investigating how these substances affect gene expression. Summer savory is an annual plant from the mint family. The main components of savory essential oil include phenolic compounds such as carvacrol, thymol, and geraniol, as well as terpenoids such as limonene and alpha- and beta-pinene. This plant contains compounds with potent antioxidant and antimicrobial activities and can positively affect growth performance, resistance to environmental stresses, and susceptibility to infectious diseases in aquatic animals. The zebrafish genome has been completely sequenced, which makes it an important biological model. Therefore, in this study, the use of different concentrations of savory ethanol extract on growth efficiency and the expression of genes related to growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF-1), which are ultimately responsible for growth in fish, as well as ghrelin hormone as an appetite hormone and a stimulant of growth hormone secretion in zebrafish, was investigated.

Material and Methods

For this experiment, 240 healthy 40-day-old zebrafish with an average weight of 65.37 ± 5.9 mg were obtained from the Royan Institute (Tehran, Iran) and distributed individually in 40-liter glass aquariums at a density of 20 fish per aquarium. After two weeks, the aquariums were assigned to four experimental treatments, each replicated three times. To prepare the experimental diets, different levels of savory ethanolic extract (0.5, 1, and 2%) were added to the feed ingredients. At the end of the 8-week experimental period, growth indices and expression of genes related to growth hormone (GH), insulin-like growth factor-1 (IGF-1), and ghrelin were measured. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) in SPSS. Differences in means were analyzed using Tukey's multiple range test at a significance level of $P < 0.05$.

Results

The results showed that growth indices, including final weight, weight gain percentage, and specific growth rate in fish, increased significantly by adding 0.5 to 2% savory extract to the diet, and the highest growth rate was achieved in the group fed with 2% savory extract, which was significantly different from the other groups ($P < 0.05$). Also, the food absorption rate increased significantly with increasing savory extract percentage, with the highest rate observed in the 2% treatment, although no significant difference was observed between the treatments in terms of feed conversion ratio ($P < 0.05$). The survival rate was also 100% in all treatments. Gene expression analysis showed that for all three genes, growth hormone (GH), ghrelin, and insulin-like growth factor (IGF-1), the relative expression of the genes in the treatments fed with savory extract was higher than the control group, although only in the case of the IGF-1 gene was this difference with the control group significant at concentrations of 1 and 2%, and no significant difference was observed for the other genes ($P < 0.05$).

Discussion

In this study, zebrafish growth indices and feed intake were significantly improved by adding savory extract to the diet, especially at 2%, compared with the control group, whereas feed conversion ratio was not. These results showed that although savory extract can improve intestinal health, digestion, and nutrient absorption, the resulting metabolic improvements were mild, and savory mainly increased growth through appetite stimulation and increased food intake. Also, the expression of ghrelin and growth hormone genes was not significant, whereas IGF-1 expression increased significantly compared to the control group. In fish, especially zebrafish, the expression of IGF-1 can be influenced by other factors and does not necessarily require an increase in growth hormone. The first is through the activation of growth pathways at the tissue level. Savory phenolic compounds, such as carvacrol and thymol, may increase tissue sensitivity to growth hormone and activate metabolic pathways, including mTOR. Also, since fish consumption has increased with the increase in savory extract percentage, this

can lead to greater intake of amino acids, nutrients, and energy, which alone can increase IGF-1 expression.

Conclusion

The results showed that adding ethanolic extract of savory to zebrafish diets increased growth indices, especially at 1 and 2%, and that this increase was mainly attributable to increased food consumption. The significant increase in IGF-1 expression, with no significant changes in the expression of ghrelin and growth hormone genes, also confirms that this increase is not due to classical activation of the GH-IGF axis, but rather to direct and indirect regulation of IGF-1 expression.

تأثیر عصاره اتانولی مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*) بر شاخص‌های رشد و بیان ژن‌های مرتبط با اشتها و رشد در ماهی گورخری (*Danio rerio*)

فاطمه غریبی جویباری^۱، معصومه بحر کاظمی^{۲✉}، مجتبی کشاورز^۳، سمیه بهرام^۴، روح‌اله جوادیان^۵

۱. گروه شیلات، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران. رایانامه: elhamgharibi13644@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، گروه شیلات، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران. رایانامه: 2721116711@iaui.ir

۳. گروه شیلات، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران. رایانامه: 2161696602@iaui.ir

۴. گروه شیلات، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران. رایانامه: 2141507839@iaui.ir

۵. گروه شیلات، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران. رایانامه: 2142081029@iaui.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی،

تاریخچه مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۳۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۴/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۱۱

کلیدواژه‌ها:

شاخص‌های رشد،

ماهی گورخری،

عصاره مرزه،

ژن‌های رشد.

گیاهان حاوی مواد زیست‌فعال هستند که می‌توانند بر متابولیسم و مسیرهای رونویسی ژن‌ها اثر گذاشته و باعث بهبود رشد آبزیان شوند. بنابراین در این تحقیق به منظور بررسی تأثیر افزودن عصاره مرزه (*Satureja hortensis*)، به جیره غذایی ماهی گورخری (*Danio rerio*)، تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی $65/37 \pm 5/9$ میلی‌گرم با جیره‌های غذایی حاوی ۰/۵، ۱، و ۲ درصد عصاره اتانولی مرزه به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. گروه کنترل نیز تنها با جیره پایه تغذیه شد. نتایج نشان داد که افزودن عصاره مرزه به جیره باعث بهبود شاخص‌های رشد در مقایسه با گروه کنترل شد. بیشترین وزن نهایی، درصد افزایش وزن و ضریب رشد ویژه در تیمار دریافت‌کننده ۲ درصد عصاره حاصل شد که با سایر گروه‌ها دارای تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0/05$). اگرچه مصرف غذا با افزایش میزان عصاره مرزه، افزایش معنی‌دار یافت، اما تفاوت ضریب تبدیل غذایی بین تیمارها معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). بررسی میزان بیان ژن‌های مربوط به اشتها و رشد نشان داد که افزایش نسبی بیان هر سه ژن گرلین (Ghrelin)، هورمون رشد (GH)، و فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) در ماهیان تغذیه شده با عصاره مرزه مشاهده شد، اما این افزایش تنها در مورد IGF-1 در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود ($P < 0/05$). بنابراین عصاره اتانولی مرزه تا سطح ۲ درصد توانست با افزایش اشتها و جذب غذا، شاخص‌های رشد در ماهی گورخری را بهبود داده و با تنظیم مسیرهای متابولیکی پایین‌دست محور رشد موجب افزایش بیان IGF-1 شود. نتیجه‌ای که به دلیل شباهت مسیرهای رشد و متابولیسم ماهی گورخری با سایر ماهیان، قابل تعمیم به گونه‌های دیگر نیز می‌باشد.

استناد: غریبی جویباری، فاطمه؛ بحر کاظمی، معصومه؛ کشاورز، مجتبی؛ بهرام، سمیه؛ و جوادیان، روح‌اله (۱۴۰۵). تأثیر عصاره اتانولی مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*) بر شاخص‌های رشد و بیان ژن‌های مرتبط با اشتها و رشد در ماهی گورخری (*Danio rerio*). *علوم آبی پروری*، ۱۴(۱)، ۷۹-۶۹.



© نویسندگان.

ناشر: انجمن آبی پروری ایران.

مقدمه

افزودن گیاهان و عصاره‌های گیاهی به غذای آبزیان یکی از موضوعات مهم در مباحث تغذیه و آبی‌پروری مدرن است. امروزه پژوهشگران دیگر فقط به رشد و ضریب تبدیل غذایی توجه نمی‌کنند، بلکه بررسی می‌کنند که این مواد چگونه بیان ژن را تحت تأثیر قرار می‌دهند، زیرا تغییر در بیان ژن است که می‌تواند در نهایت توضیح دهد که چرا یک افزودنی باعث رشد بهتر می‌شود. براساس مطالعات انجام شده ترکیب‌های گیاهی، از طریق تغییر و اصلاح میکروفلور روده‌ای، کاهش عفونت‌های گوارشی و کاهش رقابت مواد غذایی بین میزبان و میکروارگانیسم‌های روده، تأثیر خود را بر افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل غذایی ماهی اعمال می‌کنند (Ahmadifar et al., 2019a; Ghafarifarسانی et al., 2023). همچنین، بهبود عطر و طعم جیره غذایی توسط ترکیب‌های گیاهی باعث تحریک اشتها، تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی، و در نهایت هضم و جذب بهتر اجزای جیره می‌شود که همگی بر افزایش وزن مؤثر هستند (Bertucci et al., 2019). همچنین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌های گیاهی باعث حفاظت از پرزهای روده شده و در نتیجه اثر آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های پرز روده جذب مواد مغذی را بهبود می‌بخشد (Hu et al., 2025). خواص مثبت ترکیبات گیاهی به طیف وسیعی از مواد فعال شیمیایی موجود در آنها مربوط است. عمده ترکیباتی که تاکنون مورد بررسی قرار گرفته‌اند شامل: روغن‌های ضروری، ساپونین، استروئیدهای گیاهی و ... است.

مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*)، گیاهی یک ساله و از خانواده نعنائیان است. مرزه به‌عنوان گیاه خوشبوی تابستانه بومی مناطق جنوبی اروپا و بخش‌هایی از آمریکای شمالی است. ترکیبات اصلی اسانس مرزه شامل ترکیب‌های فنولی مانند کارواکرول، تیمول، ژرانیول، ترپنوئیدها، لیمونن، و آلفا ویتا پینن است. این گیاه دارای ترکیبات با عملکردهای آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی فراوان بوده و می‌تواند اثرات مثبتی بر عملکرد رشد، مقاومت در مقابل استرس‌های محیطی، و بیماری‌های عفونی در آبزیان داشته باشد (Tepe and Cilkiz, 2016). تأثیر مثبت اسانس مرزه در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و ارزش غذایی گوشت در ماهی کلمه خزری (*Rutilus caspicus*)، گزارش شده است (Mirbagheri et al., 2017). همچنین استفاده از یک درصد عصاره مرزه در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای، واکنش تخریبی و التهابی در بافت روده نیز ایجاد نکرد (Mirzaee et al., 2024). در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نیز استفاده از ۲ درصد اسانس مرزه برای بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه گزارش شده است (Ghafarifarسانی et al., 2023). هرچند در هیچ‌یک از تحقیقات فوق تأثیر مرزه بر بیان ژن‌ها بررسی نشد.

امروزه در بین گونه‌های متعدد ماهیان، مطالعه برخی از گونه‌ها به‌عنوان یک مدل زیستی حائز اهمیت است که از آن جمله می‌توان به ماهی گورخری (*Danio rerio*) اشاره کرد. ماهی گورخری یکی از ماهیان محبوب پرورش‌دهندگان ماهیان زینتی است و به دلیل اینکه بسیاری از مسیرهای رشد و متابولیسم آن با سایر ماهیان مشترک است و به دلیل تکثیر و نگهداری آسان، هم‌آوری بالا، اندازه کوچک، و دوره جنینی و دوره زندگی کوتاه، در تحقیقات به‌عنوان یک مدل زیستی کاربرد فراوان دارد. همچنین ژنوم ماهی گورخری به‌طور کامل تعیین توالی شده است و به‌همین دلیل به‌عنوان مدلی جهت آنالیز سریع عملکرد ژن‌ها و فعالیت‌های زیستی مولکول‌های آلی در تحقیقات علمی دارای اهمیت است (Lawrence, 2007). بنابراین در این تحقیق به بررسی استفاده از غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی مرزه بر بازدهی رشد، و بیان ژن‌های مربوط به هورمون رشد (GH) و فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) که مسئول نهایی رشد در ماهیان هستند و همچنین هورمون گرلین به‌عنوان هورمون اشتها و از محرک‌های ترشح هورمون رشد در ماهی گورخری پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش: برای این آزمایش، ۲۴۰ قطعه ماهی گورخری ۴۰ روزه سالم با میانگین وزنی $65/37 \pm 5/9$ میلی گرم از موسسه رویان (تهران، ایران) تهیه و به مرکز پرورش ماهی آبی گستر (ساری، ایران) منتقل شدند. ماهی‌ها با تراکم ۲۰ ماهی در آکواریوم‌های شیشه‌ای ۴۰ لیتری به‌صورت انفرادی توزیع و به‌مدت دو هفته با شرایط آزمایش سازگار شدند. ماهی‌ها در طول دوره

سازگاری، سه بار در روز با رژیم غذایی پایه (جدول ۱) تغذیه شدند. پس از دو هفته، آکواریوم‌ها به چهار تیمار آزمایشی با سه تکرار اختصاص داده شدند. در طول مدت آزمایش (۸ هفته)، ماهی‌ها چهار بار در روز تا سیری ظاهری با رژیم‌های غذایی آزمایشی تغذیه شدند. تا پایان آزمایش، ماهی‌ها هر دو هفته یکبار وزن می‌شدند تا رشد تدریجی ماهی‌ها اندازه‌گیری شود. هوادهی مداوم آکواریوم‌ها با استفاده از سنگ هوا انجام شد و آب آنها روزانه به میزان ۷۰ درصد با آب تازه تعویض گردید. پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب شامل دما ($25/3 \pm 0/7$ درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول ($7/13 \pm 0/14$ میلی‌گرم در لیتر) و pH ($7/5 \pm 0/8$) در طول دوره آزمایش اندازه‌گیری شدند.

تهیه عصاره اتانولی مرزه و جیره‌های آزمایشی: برای تهیه عصاره اتانولی مرزه، ۳۰ گرم از نمونه گیاه خشک شده (تمام قسمت) با آسیاب پودر شد و در ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانول روی انکوباتور شیکر در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت هم زده شد. عصاره با استفاده از پمپ خلاء از فیلترهای کاغذی ۰/۴۵ میکرونی عبور داده شد و اتانول باقیمانده در عصاره توسط جداکننده چرخی در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد جدا شد. در نهایت، عصاره به دست آمده توسط آسیاب برقی پودر شده و برای تهیه جیره غذایی استفاده شد. برای تهیه جیره‌های آزمایشی، سطوح مختلف عصاره اتانولی مرزه (۰/۵، ۱، ۲ درصد) براساس گزارش‌های موجود از سطوح بهینه آن در گونه‌های دیگر (Mirbagheri et al., 2017; Ghafarifarsani ; Ebrahimi and Bahram, 2025; et al., 2022)، به مواد اولیه خوراک اضافه شد (جدول ۱). سپس این مواد به مدت ۳۰ دقیقه کاملاً مخلوط شدند و در این مدت مقدار کافی آب به مخلوط اضافه شد و سپس توسط چرخ گوشت پلت شد. پس از آن، خوراک‌ها در هوا خشک، آسیاب، الک شدند تا به شکل کرامبل مناسب (۰/۵ میلی‌متر) درآیند و قبل از استفاده در کیسه‌های پلاستیکی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Ghafarifarsani et al., 2022).

جدول ۱- اجزاء و ارزش غذایی جیره‌های تهیه شده با درصدهای متفاوت عصاره اتانولی مرزه برای تغذیه ماهی گورخری

عصاره مرزه (درصد)	۰	۰/۵	۱	۲
اجزاء غذا (درصد)				
پودر ماهی (۷۲ درصد پروتئین)	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰
پودر سویا (۴۵ درصد پروتئین)	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
آرد گندم	۲۰	۱۹/۵	۱۹	۱۸
نشاسته ذرت	۳	۳	۳	۳
روغن ماهی	۵	۵	۵	۵
دی کلسیم فسفات	۳	۳	۳	۳
مکمل ویتامین*	۱	۱	۱	۱
مکمل مواد معدنی**	۱	۱	۱	۱
عصاره مرزه	۰	۰/۵	۱	۲
هم‌بند	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
کولین کلراید (۵۰ درصد)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
ارزش غذایی (درصد)				
رطوبت	۹/۳	۹/۱	۹/۴	۹/۲
پروتئین خام	۴۵/۶	۴۵/۵	۴۵/۴	۴۵/۳
چربی کل	۱۵/۶	۱۵/۴	۱۵/۷	۱۵/۵
خاکستر	۱۱/۹	۱۲/۰	۱۱/۸	۱۱/۷

* مکمل ویتامین (واحد بین‌المللی یا میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی): دی‌آل-آلفا توکوفرول استات، ۶۰ واحد بین‌المللی؛ دی‌آل-کوله‌کسیفرول، ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ تیامین، ۱۵ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین، ۳۰ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، ۱۵ میلی‌گرم؛ ویتامین ب ۱۲، ۰/۵ میلی‌گرم؛ اسید نیکوتینیک، ۱۷۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۵ میلی‌گرم؛ اسید اسکوربیک، ۵۰۰ میلی‌گرم؛ اینوزیتول، ۱۰۰۰ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۲/۵ میلی‌گرم؛ پانتوتات کلسیم، ۵۰ میلی‌گرم

** مکمل مواد معدنی (گرم یا میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی): کرنات کلسیم (۴۰٪ کلسیم)، ۲/۱۵ گرم؛ اکسید منیزیم (۶۰٪ منیزیم)، ۱/۲۴ گرم؛ سترات فریک، ۰/۲ گرم؛ یدید پتاسیم (۷۵٪ منیزیم)، ۰/۴ میلی‌گرم؛ سولفات روی (۳۶٪ روی)، ۰/۴ گرم؛ سولفات مس (۲۵٪ مس)، ۰/۳ گرم؛ سولفات منگنز (۳۳٪ حادقل)، ۰/۳ گرم؛ فسفات کلسیم (۲۰٪ کلسیم)، ۱۸/۱۸ (فسفر)، ۵ گرم؛ سولفات کالک، ۲ میلی‌گرم؛ سلنیت سدیم (۳۰٪ سلنوم)، ۳ میلی‌گرم؛ کلرید پتاسیم، ۰/۹ گرم؛ کلرید سدیم، ۰/۴ گرم

شاخص‌های رشد: در پایان دوره آزمایش، ماهی‌های به مدت ۲۴ ساعت گرسنه نگه داشته شدند و پس از بیهوشی در حمام اسانس میخک (۵۰ میکرولیتر در لیتر)، (Ahmadifar et al., 2019a)، وزن شدند. وزن نهایی (FW)، افزایش وزن (WG)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، نرخ رشد ویژه (SGR) و نرخ بقا براساس فرمول‌های استاندارد به شرح زیر محاسبه شدند:

$$\text{افزایش وزن (WG, درصد)} = \frac{(\text{وزن اولیه (گرم)} - \text{وزن نهایی (گرم)})}{\text{وزن اولیه (گرم)}} \times 100$$

$$\text{نرخ رشد ویژه (SGR, درصد/روز)} = \frac{(\text{Ln}(\text{وزن اولیه}) - \text{Ln}(\text{وزن نهایی}))}{\text{روز}} \times 100$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی (FCR)} = \frac{\text{غذای خورده شده (گرم)}}{\text{افزایش وزن (گرم)}}$$

$$\text{نرخ بقا (درصد)} = \frac{(\text{تعداد نهایی ماهی} / \text{تعداد اولیه ماهی})}{100} \times 100$$

بیان ژن‌های اشتها و رشد: در انتهای دوره آزمایش، ۳ عدد ماهی گورخری از هر آکواریوم برای این منظور استفاده شد. ابتدا کل بدن ماهیان به صورت کاملاً همگن درآمد و سپس RNA آنها با استفاده از کیت GeneAll (GeneAll Biotechnology، سئول، کره) استخراج شد. غلظت و خلوص نمونه‌های RNA با استفاده از اسپکتروفتومتر نانودراپ (Thermo Fisher Scientific)، ویلمینگتون، ایالات متحده) ارزیابی شد. تأیید کیفیت و یکپارچگی نمونه‌های RNA نیز از طریق رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید صورت گرفت. پس از فرآیند استخراج، سنتز مکمل DNA (cDNA) با استفاده از ۲ میکروگرم RNA کل به همراه پرایمرهای هگزامر تصادفی انجام شد. طراحی پرایمرها برای ژن‌های مربوط به هورمون رشد (GH)، فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1)، و گرلین (Ghrelin)، با استفاده از نرم‌افزار تجزیه و تحلیل Oligo5 انجام شد (جدول ۲). ژن گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به عنوان کنترل داخلی برای استانداردسازی سطوح بیان ژن‌های هدف استفاده شد. ارزیابی بیان ژن‌های انتخاب شده از طریق PCR Real Time با استفاده از SYBR Green Mastermix صورت گرفت. فرآیند PCR با ۱۰ میکرولیتر SYBR، ۲ میکرولیتر cDNA، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر رو به جلو (Forward) و ۰/۵ میکرولیتر پرایمر معکوس (Reverse) در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام شد. نمونه‌های RNA همزمان با ژن کنترل داخلی در طول استاندارد سازی بارگذاری cDNA پردازش شدند. (Livak and Schmittgen, 2001). پروتکل RT-PCR در جدول ۲ ارائه شده است. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار RotorGene® 6000 تجزیه و تحلیل شدند. کمی‌سازی تغییر بیان mRNA در ژن‌های تعیین شده با استفاده از روش Livak و Schmittgen (۲۰۰۱)، محاسبه شد. برای کاهش خطای اندازه‌گیری، هر واکنش PCR در تمام نمونه‌ها ۳ بار تکرار شد.

جدول ۲- لیست آغازگرها و توالی نوکلئوتیدی استفاده شده در این تحقیق برای تکثیر ژن‌ها

ژن	توالی آغازگر	طول قطعه (جفت باز)	دما (درجه سانتی‌گراد)	شماره دسترسی در بانک ژنی NCBI
Ghrelin	F: 5'ACAAGTTAAATGCGATGACG3'	۲۰	۵۴/۷۴	XM_021470442.1
	R: 5'CGTCTTTCCAATATGCTCAA3'	۲۰	۵۳/۷۱	
GH	F: 5'TTCTCTCCAAATCCGTCTCC3'	۲۰	۵۶/۶۵	NM_131825.2
	R: 5'AGAAAGAGGATGAGATGCGG3'	۲۰	۵۷/۰۹	
IGF-1	F: 5'TCACAAACGAGGACACAACC3'	۲۰	۵۸/۳۴	NM_001115114.1
	R: 5'GCCACGATCTCCACTTTCTT3'	۲۰	۵۷/۹۰	

تجزیه و تحلیل آماری: ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov ارزیابی شد و همگنی واریانس‌ها با آزمون Levene بررسی شد. سپس داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) توسط نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۰) تجزیه و تحلیل شدند. تفاوت میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای Tukey در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ بررسی شد. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شدند.

نتایج

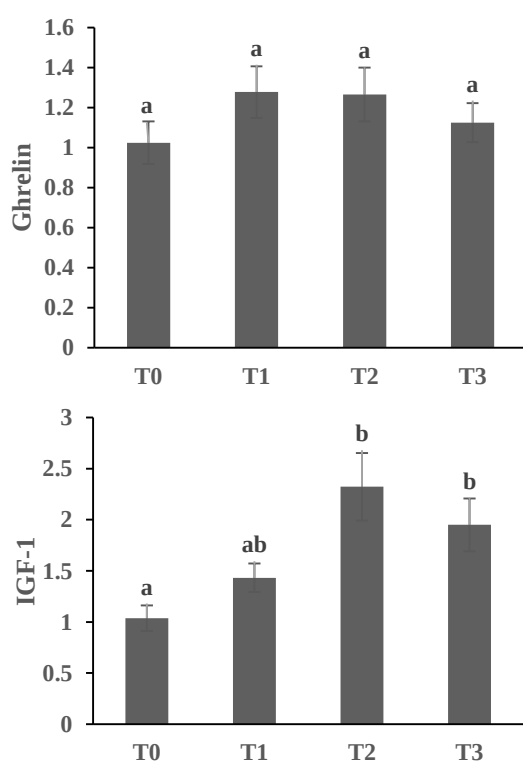
نتایج عملکرد رشد ماهی گورخری نشان داد که شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، درصد افزایش وزن، و ضریب رشد ویژه در ماهیان با افزودن ۰/۵ تا ۲ درصد عصاره مرزه به جیره غذایی افزایش معنی‌دار یافت و بیشترین میزان رشد در گروه تغذیه شده با ۲ درصد عصاره مرزه حاصل شد که با گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). همچنین میزان جذب غذا با افزایش درصد عصاره مرزه افزایش معنی‌دار نشان داد و بیشترین میزان مربوط به تیمار ۲ درصد بود، هر چند از نظر ضریب تبدیل غذایی تفاوت معنی‌دار بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$). درصد بازماندگی نیز در تمام تیمارها ۱۰۰ درصد بود (جدول ۳).

جدول ۳- شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای در ماهیان گورخری تغذیه شده با درصدهای متفاوت عصاره اتانولی مرزه به مدت ۸ هفته

عصاره مرزه (درصد)	۰	۰/۵	۱	۲	P
شاخص‌های رشد					
وزن اولیه (میلی گرم)	۶۵/۸۹±۲/۴۳	۶۶/۰۰±۲/۰۰	۶۶/۶۳±۲/۳۵	۶۶/۷۰±۲/۲۵	۰/۹۸۶
وزن نهایی (میلی گرم)	۱۴۱/۱۱±۲/۵۴ ^a	۱۵۱/۹۷±۲/۱۷ ^b	۱۵۹/۱۷±۲/۷۵ ^c	۱۶۵/۲۰±۱/۹۳ ^d	۰/۰۰۱
افزایش وزن (درصد)	۱۱۴/۵۳±۴/۳۴ ^a	۱۳۰/۵۹±۳/۷۲ ^b	۱۳۹/۶۴±۲/۵۲ ^c	۱۴۷/۷۱±۱/۱۵ ^d	۰/۰۴۵
نرخ رشد ویژه (درصد/روز)	۱/۳۶±۰/۰۴ ^a	۱/۴۹±۰/۰۳ ^b	۱/۵۶±۰/۰۹ ^{bc}	۱/۶۲±۰/۰۳ ^c	۰/۰۳۷
جذب غذا (گرم غذا/اکواریوم)	۱۹۶/۹۰±۴/۸۳ ^a	۲۲۴/۳۰±۵/۲۵ ^b	۲۴۳/۴۰±۶/۱۸ ^c	۲۵۸/۶۰±۳/۱۳ ^d	۰/۰۰۳
ضریب تبدیل غذایی	۲/۶۲±۰/۰۵	۲/۶۱±۰/۰۶	۲/۶۴±۰/۱۲	۲/۶۲±۰/۱۲۱	۰/۹۹۵
نرخ بازماندگی (درصد)	۱۰۰±۰/۰۰	۱۰۰±۰/۰۰	۱۰۰±۰/۰۰	۱۰۰±۰/۰۰	---

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

بررسی بیان ژن‌ها نشان داد که در مورد هر سه ژن هورمون رشد (GH)، گرلین (Ghrelin)، و فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1)، بیان نسبی ژن‌ها در تیمارهای تغذیه شده با عصاره مرزه بیشتر از گروه شاهد بود، هرچند که تنها در مورد ژن IGF-1 این تفاوت با گروه کنترل در غلظت‌های ۱ و ۲ درصد معنی‌دار بود و در مورد سایر ژن‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۱؛ $P > 0.05$).



شکل ۱- سطح بیان ژن‌های رشد و اشتها در ماهی گورخری تغذیه شده با سطوح متفاوت عصاره اتانولی مرزه به مدت ۸ هفته، گروه کنترل (T0)، ۰/۵ درصد عصاره مرزه (T1)، ۱ درصد عصاره مرزه (T2)، ۲ درصد عصاره مرزه (T3)

بحث

استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان افزودنی در خوراک آبزیان یک استراتژی سازگار با محیط‌زیست است. علاوه بر آن، گیاهان حاوی بسیاری از ترکیبات زیست‌فعال مانند پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، و ترپنوئیدها هستند که به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های مولکولی عمل می‌کنند، یعنی می‌توانند بر مسیرهای پیام‌رسانی سلولی اثر گذاشته و باعث افزایش رونویسی بعضی ژن‌ها شوند (Safari et al., 2022).

در این تحقیق، شاخص‌های رشد ماهی گورخری و همین‌طور میزان جذب غذا به‌طور قابل‌توجهی با افزودن عصاره مرزه به جیره، به‌ویژه مقدار ۲ درصد، در مقایسه با گروه کنترل بهبود یافت، نتیجه‌ای که در مورد ضریب تبدیل غذایی حاصل نشد. از آنجا که افزایش وزن تقریباً متناسب با افزایش مصرف غذا بوده، ضریب تبدیل غذایی تغییر معنی‌داری نشان نداد. عصاره مرزه سرشار از ترکیبات فنولی مانند کارواکرول و تیمول است که می‌توانند ترشح آنزیم‌های گوارشی را تحریک کنند، بو و عطر غذا را جذاب‌تر کرده و مصرف غذا را افزایش دهند (Fierascu et al., 2018). نتایج این تحقیق نشان داد که هر چند عصاره مرزه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، و ضد میکروبی است و قادر است با افزایش تعداد میکروب‌های مفید روده و ممانعت از رشد میکروب‌های بیماری‌زا، سلامت روده و هضم و جذب غذا را ارتقا دهد، اما بهبود متابولیسمی ایجاد شده خفیف بوده و مرزه عمدتاً از طریق تحریک اشتها و افزایش دریافت غذا موجب رشد بیشتر شده است. مشابه نتایج حاضر، اثرات مثبت استفاده از ۱-۲ درصد عصاره مرزه در جیره غذایی ازون برون (*Acipenser stellatus*) بر شاخص‌های رشد گزارش شده است (Ebrahimi and Bahram, 2025). در مطالعه Mirbagheri و همکاران (۲۰۱۷) افزودن اسانس مرزه به جیره غذایی ماهی کلمه خزری (*Rutilus caspicus*)، علاوه بر تأثیر بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون موجب بهبود شاخص‌های رشد گردید. در تحقیق دیگر در همین گونه، مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس مرزه موجب افزایش وزن، نرخ رشد و بهره‌دهی و درصد بقا در مواجهه با استرس شوری شد (Ghafariarsani et al., 2022). همچنین استفاده از ۲ درصد اسانس مرزه موجب بهبود شاخص‌های رشد، ایمنی، و آنتی‌اکسیدانی در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، گشت (Ghafariarsani et al., 2023). نتایجی مشابه در کپور معمولی در استفاده از پودر آویشن و مرزه در جیره غذایی گزارش شده است که موجب ارتقاء بازدهی رشد و تغذیه و درصد بقا در ماهیان شد (Ahmadifar et al., 2018). در تحقیق حاضر با افزودن عصاره مرزه به جیره غذایی میزان بیان ژن‌های گرلین، و هورمون رشد معنی‌دار نبود و تنها بیان IGF-1 در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار یافت. این نتیجه از نظر فیزیولوژیک می‌تواند یک مکانیسم اختصاصی برای اثر مرزه تابستانه را نشان دهد.

گرلین یک پپتید با ۲۸ اسید آمینه و یک گروه ان-اکتا نوئیل است که از دستگاه گوارش به‌ویژه معده (بیش از ۷۰ درصد)، ترشح می‌شود. مهمترین عملکرد گرلین ایجاد اشتها و تحریک ترشح هورمون رشد است. در واقع این هورمون یک لیگاند درون‌زاد برای گیرنده GHSR-a هورمون رشد بوده و سبب افزایش سیگنال‌های گرسنگی و افزایش اشتها، افزایش رفتار دریافت غذا، کاهش انرژی مصرفی و در نهایت افزایش وزن می‌شود (Hosoda et al., 2002). البته بیان ژن گرلین به زمان نمونه‌برداری نسبت به تغذیه، و وضعیت سیری و گرسنگی بسیار وابسته است و عدم تغییر معنی‌دار بیان گرلین با وجود افزایش مصرف غذا در این تحقیق می‌تواند به این دلیل باشد که مرزه اشتها را از مسیرهای دیگری مانند نوروپپتید Y افزایش داده است (Reinecke, 2010).

هورمون‌های اصلی تنظیم‌کننده رشد در ماهیان هورمون رشد (GH) و فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) هستند. هورمون رشد توسط غده هیپوفیز تولید شده و ترشح آن در درجه نخست توسط هورمون‌های بخش هیپوتالاموس مغز کنترل می‌شود. بافت‌های مختلف از جمله مغز، روده، کبد، و عضله به‌عنوان اندام هدف هورمون رشد محسوب می‌شوند، اما اندام اصلی هدف این هورمون کبد است. هورمون رشد پس از رهاسازی به خون به گیرنده‌های خود عمدتاً در کبد متصل شده و موجب ساخت و رهاسازی IGF-1 می‌شود (Sissenser et al., 2013). IGF-1 هورمونی مهم با عملکردهای زیستی متعدد از جمله تنظیم متابولیسم سلولی،

تقسیم و تمایز سلول، تسریع رشد سلولی و تنظیم رشد است (Bertucci et al., 2019). محور رشد در ماهیان را می‌توان چنین در نظر گرفت: هورمون گرلین ← هورمون رشد ← فاکتور رشد شبه انسولین. اما این مسیر همیشه کاملاً خطی نیست. در ماهیان، به‌ویژه ماهی گورخری، بیان IGF-1 می‌تواند تحت تأثیر عوامل دیگری نیز قرار گیرد و الزاماً نیازمند افزایش هورمون رشد نیست. اولین مورد از طریق فعال شدن مسیرهای رشد در سطح بافتی است. ترکیبات فنولی مرزه مانند کارواکرول و تیمول ممکن است حساسیت بافت‌ها به هورمون رشد را افزایش دهند، مسیرهای متابولیکی مانند (mTOR)، Mechanistic Target of Rapamycin را فعال کنند و در نهایت بیان IGF-1 را افزایش دهند. در این حالت حتی اگر mRNA مربوط به هورمون رشد تغییر نکند، رشد می‌تواند افزایش یابد (Reinecke, 2010). همچنین از آنجا که با افزایش درصد مرزه، مصرف غذا در ماهیان افزایش یافته است این امر می‌تواند به دریافت بیشتر اسیدهای آمینه، و مواد مغذی و انرژی منجر شود که به تنهایی قادر به افزایش بیان IGF-1 هستند (Sissener et al., 2013). در ارتباط با تأثیر افزودن گیاهان به جیره ماهیان بر بیان ژن‌های مربوط به اشتها و رشد گزارش‌ها بسیار اندک است. به‌عنوان مثال، می‌توان به استفاده از ۳ درصد پودر بادرنجبویه در جیره ماهی گورخری اشاره کرد که علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد موجب افزایش بیان ژن‌های GH و IGF-1 گردید (Safari et al., 2022). نتیجه‌ای که تنها در مورد IGF-1 با نتایج این تحقیق شباهت داشت. اما در مورد افزایش بیان ژن‌های هورمون رشد، فاکتور رشد شبه انسولین، و گرلین با تغییرات اجزای غذایی مانند پروتئین و چربی جیره غذایی گزارشات متعددی وجود دارد (Riki et al., 2019; Ebrahimnezhadarabi et al., 2022).

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزودن عصاره اتانولی گیاه مرزه به جیره غذایی ماهی گورخری توانست شاخص‌های رشد را به ویژه در سطح ۱ و ۲ درصد افزایش دهد و این افزایش را عمدتاً از طریق افزایش مصرف غذا انجام می‌دهد. افزایش معنی‌دار بیان IGF-1 در غیاب تغییرات معنی‌دار بیان ژن‌های گرلین و هورمون رشد نیز تأیید می‌کند که این افزایش نه از طریق فعال‌سازی کلاسیک محور IGF-GH، بلکه از طریق تنظیم مستقیم و غیر مستقیم بیان IGF-1 صورت می‌گیرد.

ملاحظات اخلاقی

حامی مالی

مقاله حاضر با حمایت مالی و معنوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر انجام شد.

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید آنهاست.

بیانیه دسترسی به داده‌ها

داده‌های پژوهش حاضر از طریق درخواست از نویسندگان قابل دسترسی است.

References

- Ahmadifar A., Enaat Gholampour T., Shahriari Moghadamm M., Moghadamfar S., Masoudi E. 2018. Studying the effect of herbal supplement of thyme and savory powder on growth performance, survival rate, some biochemical blood indices and carcass composition in common carp. *Fisheries, Iranian Natural Resources Journal* 70(4), 424-434 (In Persian)
- Ahmadifar E., Sheikhzadeh N., Roshanaei K., Dargahi N., Faggio C. 2019a. Can dietary ginger (*Zingiber officinale*) alter biochemical and immunological parameters and gene expression related to growth, immunity and antioxidant system in zebrafish (*Danio rerio*)? *Aquaculture* 507, 341-348.

- Bertucci J.J., Blanco A.M., Sundarrajan L., Rajeswari J.J., Velasco C., Uniappan S. 2019.** Nutrient Regulation of Endocrine Factors Influencing Feeding and Growth in Fish. *Frontiers in Endocrinology* 10(83), 1-17.
- Ebrahimi Y., Bahram S. 2025.** Dietary supplementation of savory (*Satureja hortensis* L) extract improves the growth performance, hematological, and immune parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 24(3), 527-537.
- Ebrahimnezhadarabi M., Hoseinifard S.M., Changizi R., Vatandoust S., Ghobadi Sh. 2022.** The effects of hydrolyzed canola meal protein on growth, body composition and expression of growth genes, and appetite of beluga fish (*Huso huso*). *The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology* 35(1), 28-43. (In Persian)
- Fierascu I., Dinu- Pirvu C.E., Fierascu R.C., Velescu B.S., Anuta V., Ortan A., Jinga V. 2018.** Phytochemical Profile and Biological Activities of *Satureja hortensis* L.: A Review of the Last Decade. *Molecules* 23(10), 2458.
- GhafariFarsani H., Aftabgard M., Hoseinifar S.H., Raeeszadeh M., Van Doan H. 2023.** Comparative effects of savory (*Satureja hortensis*), dill (*Anethum graveolens*), and mooseer (*Allium hirtifolium*) essential oils on growth, digestive, and immune antioxidant parameters and resistance to *Aeromonas hydrophila* in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 572, 739541.
- GhafariFarsani H., Hoseinifar S.H., Aftabgard M., Van Doan H. 2022.** The improving role of savory (*Satureja hortensis*) essential oil for Caspian roach (*Rutilus caspicus*) fry: Growth, haematological, immunological, and antioxidant parameters and resistance to salinity stress. *Aquaculture* 548, 737653..
- Hosoda H., Kojima M., Kangawa K. 2002.** Ghrelin and regulation of food intake and energy balance. *Molecular Interventions* 2(8), 494-503.
- Hu X., Ma W., Zhang D., Zikun T., Yang Y., Huang Y., Hong Y. 2025.** Application of Natural Antioxidants as Feed Additives in Aquaculture: A Review. *Biology* 14(1), 87.
- Lawrence C., Lawrence C. 2007.** The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture* 269, 1-20.
- Livak K.J., Schmittgen T.D. 2001.** Analysis of Relative Gene Expression Data Using RealTime Quantitative PCR and the 22 DDCT Method. *Methods* 25, 402-408. DOI:10.1006/meth.2001.1262
- Mirbagheri V., Meshkiniy S., Ghafari Farsani H., Naderi Farsani M., Bahremand M., 2017.** Effects of different levels of essential oils (*Satureja hortensis* L.) in diet on improvement growth, blood biochemical and body composition of roach fry (*Rutilus caspicus*). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 33(3), 350-360. (In Persian)
- Mirzaee M., Hajimoradloo A., Jafar Nodeh A., Abolfathi M., 2024.** Investigation of growth and nutritional indices, histopathology of the intestine, and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry fed with different levels of hydroalcoholic extract of Savory (*Satureja hortensis*). *Journal of Fisheries* 77(2), 135-146. (In Persian)
- Reinecke M. 2010.** Influences of the environment on the endocrine and paracrine fish growth hormone-insulin-like growth factor-I system. *Journal of Fish Biology* 76(6), 1233-1254.
- Riki F., Sudagar M., Paknejad H., Yousefi S., 2019.** Effects of different levels of dietary protein and lipid on expression of genes involved in immunity (lysozyme and TNF- 1 α) and appetite (ghrelin) of Zebrafish. *Aquatic nutrition* 5(1), 47-58 (In Persian)
- Safari R., Roosta Z., Rahmani E., Hossain S., Raeisi M., Van Doan H., Paolucci M., Hoseinfar H. 2022.** Dietary dragonhead effects on growth, immunity and antioxidant and related genes expression in zebra fish. *Aquaculture Reports* 27, 101384.
- Sissener N.H., Hemre G.I., Espe M., Sanden M., Torstensen B.E., Hevrøy E.M. 2013.** Effects of plant-based diets on glucose and amino acid metabolism, leptin, ghrelin and GH-IGF system regulation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition* 19(3), 399-412.
- Tepe B., Cilkiz M. 2016.** A pharmacological and phytochemical overview on *Satureja*. *Pharm Biology* 54(3), 375-412.