اثرات پودرکنسانتره ماءالشعیر بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد و ایمنی موکوس در ماهی کپور معمولی (*Cyprinius caroio*)

رقیه صفری*[1]، محمدرضا ایمانپور[1]، ولی اله جعفری[1]، شبنم نژاد مقدم[1]

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،
صندوق پستی: ۵۷۴۷۸-۴۹۱۷۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۲۶

چکیده

در این مطالعه اثر پودر کنسانتره ماءالشعیر بر بیان ژن هورمون رشد (GH) و فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF1) و ایمنی موکوس (ایمنوگلوبولین و آلکالین فسفاتاز) ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار گرفت. بدین‌منظور ۱۸۰ قطعه ماهی کپور با میانگین وزنی ۲± ۱۲/۵ گرم به مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم بر کیلوگرم پودر کنسانتره ماءالشعیر (۴ تیمار و ۳ تکرار) تغذیه شدند. در انتهای دوره، RNA از بافت‌های کبد و مغز استخراج، سنتزcDNA با استفاده از کیت Suprime Script RTase انجام و سنجش بیان ژن‌های مرتبط با رشد GH (در بافت مغز) وIGF1 (در بافت کبد) با استفاده از Real Time PCR انجام شد. شاخص‌های ایمنی موکوس (ایمنوگلوبولین و آلکالین فسفاتاز) با استفاده از کیت بررسی شد. بررسی بیان ژن GH موید افزایش معنی‌دار بیان این ژن در ماهیان تغذیه‌شده با پودر کنسانتره ماءالشعیر در مقایسه با تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). اما بیان ژن IGF1 اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد (P<۰/۰۵). میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و ایمونو گلوبولین کل موکوس بچه‌ماهی‌ها در تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی پودر کنسانتره ماءالشعیر به‌طور معنی‌داری بالاتراز تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج این مطالعه، استفاده از پودر کنسانتره ماءالشعیر می‌تواند ایمنی و رشد را در کپور معمولی بهبود دهد.

کلمات کلیدی: کپور معمولی، پودر کنسانتره ماءالشعیر، ایمنی، بیان ژن رشد.

* عهده‌دار مکاتبات (✉): fisheriessafari@yahoo.com

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.1.9]

مقدمه

در طی چنددهه گذشته، صنعت آبزی‌پروری دارای سریع‌ترین رشد در بخش تولید مواد غذایی در جهان می‌باشد. تولید ماهی در طول دوره پرورش با عوامل محدودکننده از جمله بیماری‌ها و شرایط نامطلوب روبرو است. باتوجه به این‌که افزایش رشد و بازدهی همراه با پیش‌گیری از بیماری در مزارع آبزی‌پروری یکی از راه‌کارهای مدیریتی است و تغذیه نیز یکی از فاکتورهای اصلی هزینه در آبزی‌پروری می‌باشد (۶۰ تا ۷۰ درصد هزینه‌ی کل تولید)، لذا استفاده از رژیم‌های غذایی مناسب که با بهبود عملکرد رشد و ایمنی بتواند اثرات مطلوب را ایجاد نماید یکی از ضرورت‌ها در بحث مدیریت تغذیه و بهداشتی مزارع پرورشی آبزی‌پروری است. تمایل شدید به حذف آنتی بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری به‌علت هزینه بالا، ایجاد مقاومت دارویی، مشکلات زیست محیطی، پایین آوردن کیفیت گوشت و مشکلات اجرایی تجویز دارو باعث شده است توجه به محرک‌های ایمنی به‌عنوان جایگزینی برای درمان آنتی بیوتیکی بیشتر مورد توجه واقع گردد (Ardo *et al*., 2008; Liu, 2013;). امروزه تلاش بر این است که مکمل‌های غذایی با منشأ طبیعی نظیر پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، گیاهان و عصاره‌های آن‌ها مورد استفاده قرار گیرد. ماءالشعیر نوشیدنی است که از عصاره جوانه جو بدست می‌آید. غلاتی مانند جو منابع خوبی از بتا گلوکان، آرابینوگزیلان و الیگوساکاریدهایی مثل گالاکتو و فروکتو الیگوساکارید و نشاسته مقاوم هستند که می‌توانند به‌عنوان پری‌بیوتیک عمل نموده و به‌طور انتخابی رشد لاکتوباسیلوس و بیفیدو باکتریوم حاضر در کولون روده را تحریک نمایند (Devoutly *et al*., 2006; درجانی و ماهونگ، ۱۳۹۰؛ راستی و عزیزی، ۱۳۹۰؛ واحدی امیری و همکاران، ۱۳۹۷و باعثی و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین ماءالشعیر به علت دارا بودن مالت و رازک سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های مختلف است (Vinson *et al*., 2003). پری‌بیوتیک‌ها پلی‌ساکاریدهای غیرقابل‌هضم‌اند که به‌طور غیرمستقیم و انتخابی با تأثیر بر پروبیوتیک‌ها باعث تغییر فلور باکتریایی مفید و همزیست در دستگاه گوارش ماهی می‌شود و درنتیجه سبب بهبود رشد و سلامتی میزبان می‌گردد (Ringo *et al*., 2014). پودر کنسانتره ماءالشعیر محصولی است که ازخشک نمودن عصاره مالت تولید شده و امروز به‌عنوان مکمل غذایی در جیره غذایی طیور استفاده می‌گردد. مطالعات متعددی در خصوص اثر مثبت ماءالشعیر بر انسان گزارش شده است که می‌توان به بهبود متابولیسم چربی‌ها، پیش‌گیری از استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی که منجر به اثرات حفاظتی در قلب می‌گردد، اشاره نمود (Polak *et al*., 2013; Lourdes *et al*., 2013).

هورمون رشد و فاکتور رشد شبه انسولین (IGFs)، هورمون اصلی تنظیم کننده رشد حیوانات است. هورمون رشد از غده هیپوفیز می‌تواند با فعالیت مستقیم روی بافت هدف رشد را تحریک کند. گزارش شده است که سطوح IGF1، سطح تغذیه و نرخ رشد باهم در ارتباط می‌باشند (Beckman *et al*., 2004). غده هیپوفیز با ترشح هورمون رشد (GH) موجب تحریک کبد جهت تولید IGF1 با فعال کردن گیرنده‌های GH می‌شود. با این‌حال دست‌کاری جیره‌های غذایی موجب افزایش پاسخ گیرنده‌های GH در بافت کبد می‌شوند. بنابراین می‌توان سطح IGF1 را با تحت‌تأثیر قرار دادن

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.1.9]

عوامل و فرایندهای مؤثر بر تولید آن کنترل نمود (Beckman, 2011).

ایمنی موکوسی یکی از بخش‌های مهم سیستم ایمنی غیر اختصاصی می‌باشد و به‌عنوان یک مخزن بیولوژیکی متشکل از مواد فعال و مولکول‌های ایمنی متعدد از جمله لیزوزیم، پروتئین‌ها، ایمنوگلوبین‌ها، آنزیم‌ها، لکتین و غیره می‌باشد و در زمان آسیب بافتی و تهاجم عوامل بیماری‌زا اثرات مستقیمی بر پاتوژن‌ها دارند (Palaksha *et al*., 2008).

مطالعات متنوعی در رابطه با تأثیر جیره‌های حاوی پری‌بیوتیک بر رشد و تقویت عملکرد ایمنی در گونه‌های مختلف ماهی انجام شده است (Torrecillas *et al*., 2007; Gultepe *et al*., 2010; Ghobadi *et al*., 2013; Sirimanapong *et al*., 2015)، اما تاکنون در زمینه استفاده پودر کنسانتره ماءالشعیر در آبزی‌پروری مطالعه‌ای انجام نشده است، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات تغذیه‌ای پودر کنسانتره ماءالشعیر بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد و شاخص‌های ایمنی موکوس ماهی کپور معمولی صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه، ذخیره‌سازی و تقسیم ماهیان

این مطالعه طی مدت ۶۰ روز و در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. ۳۶۰ قطعه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۲± ۱۲/۵ گرم از پرورش ماهیان گرمابی در استان گلستان تهیه شدند و به آزمایشگاه مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید فضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. ماهیان در بدو ورود با آب نمک ۲٪ ضدعفونی و به‌مدت ۱۰ روز جهت سازگاری با شرایط پرورش با غذای پایه تغذیه شدند. ماهیان پس از توزین، بطور تصادفی در ۱۲ وان ۴۰۰ لیتری با تراکم ۳۰ قطعه در هر وان (۴ تیمار و ۳ تکرار) توزیع شدند. دمای آب ۲±۲۵درجه سانتی‌گراد، اکسیژن و pH آب به‌ترتیب ۰/۱۵± ۷/۹ میلی‌گرم بر لیتر و۰/۲± ۷ بود.

آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی

پودر کنسانتره ماءالشعیر از شرکت نیرو مالت خراسان تهیه شد. باتوجه به نتایج حاصل از زیست‌سنجی هر یک از مخازن پرورشی، جیره غذایی حاوی سطوح مختلف از پودر کنسانتره ماءالشعیر با دوزهای ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد، با پودر کردن غذای پایه و افزودن این میزان به غذا، سپس مخلوط به‌هم زده شد تا به‌صورت همگن درآید و سپس با استفاده دستگاه غذاساز به اندازه مورد نظر آماده شده و در مجاورت جریان هوای ملایم که توسط فن ایجاد گردیده بود خشک شد. جیره تهیه‌شده تا زمان استفاده در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید. غذادهی در ۳ نوبت بر اساس ۳ درصد وزن بدن انجام می‌شد.

جدول۱: ترکیب و درصد اجزاء جیره تجاری مورد استفاده در تغذیه ماهیان

اجزای جیره	پروتئین خام	چربی	فیبر	خاکستر	رطوبت	فسفر
درصد اجزاء جیره(٪)	۳۲	۸	۶	۱۰	۱۰	۱

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.1.9]

نمونه برداری

در پایان دوره نمونه‌برداری از ماهیان مورد آزمایش، هر تیمار و تکرارهای آن (تعداد ۳ نمونه از هر تکرار)، به‌طور تصادفی انجام پذیرفت.

نمونه برداری، استخراج RNA و سنتز cDNA

جهت بررسی میزان بیان ژن مرتبط با رشد (GH و IGF1) در شرایط استریل از بافت‌های مغز و کبد نمونه‌برداری صورت گرفت. ماهیان در زمان نمونه برداری ابتدا توسط پودر گل میخک با دوز ppm ۲۰۰ بیهوش و کشته شدند. سپس بافت‌های مورد نظر جدا شده و داخل تیوپ‌های از قبل استریل‌شده قرار گرفته و بلافاصله تیوپ‌ها به تانک ازت انتقال داده شدند. در پایان نمونه‌برداری نمونه‌ها تا زمان استفاده جهت استخراج RNA در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت استخراج RNA نمونه‌ها با استفاده از هاون چینی (در داخل هاون مقداری ازت مایع قرار داده شد) کوبیده شدند تا پودر شوند. استخراج RNA با استفاده از کیت Biozol انجام گرفت. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با دستگاه نانودراپ و با الکتروفورز ژل آگاروز سنجیده شد. جهت سنتز cDNA از کیت Suprime Script RTase استفاده شد. cDNA های سنتز شده تا شروع آزمایش‌ها در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. واکنش qPCR بعد از بهینه‌سازی دما و مواد مصرفی، در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با استفاده از پرایمر qPCR طراحی شده برای ژن‌های مورد نظر و ژن رفرنس بتا اکتین (Safari *et al*., 2016) (جدول ۲) توسط کیت سایبر گرین در دستگاه iQ5 شرکت (BIO-RAD, USA) و با استفاده از نرم‌افزار بایورد iQ5 اپتیکال برای هر نمونه در ۳ تکرار بیولوژیکی و ۳ تکرار تکنیکی انجام شد. از آن‌جایی که در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد محصول غیراختصاصی و دایمر مشاهده نشد، این دما به‌عنوان دمای واکنش در نظر گرفته شد.

جدول ۲: توالی آغازگرهای استفاده شده

نام پرایمر	مشخصات پرایمر	کارایی پرایمر	دمای اتصال
GH	Forward: TCTTCGCATCTCTTTTCACC Reverse: AGTCGGCCAGCTTCTCA	٪۹۹	۶۰
IGF1	Forward: GGCATTGGTGTGATGTCTTT Reverse: ATATCCTGTCGGTTTGCTG	٪۹۹	۶۰
B-ctin	Forward: GACATCAGGGTGTCATGGTTGGT Reverse: CTCAAACATGATCTGTGTCAT	٪۹۹	۶۰

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.1.9]

جمع‌آوری موکوس

جهت جمع‌آوری موکوس در انتهای دوره، غذادهی به مدت ۲۴ ساعت قطع گردید. موکوس با استفاده از محلول نمک (مرک آلمان) ۵۰ میلی‌مولار از نمونه‌ها در طی زمان ۳ دقیقه در پلاستیک جمع‌آوری و توسط دستگاه سانتریفیوژ (5810R Eppendorf, Engelsdorf, Germany) با دور ۱۵۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند، سپس مایع سطحی جمع‌آوری و به لوله‌های استریل منتقل شده و جهت انجام آزمایشات بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Subramanian *et al.*, 2007).

سنجش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز

سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی موکوس با استفاده از کیت تولید شده توسط شرکت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom, Libera S12) در طول موج ۴۱۵ نانومتر و اختلاف جذب نوری در مدت ۳ دقیقه تعیین گردید (Bessey *et al.*, 1946).

اندازه‌گیری ایمنوگلوبولین کل

جهت اندازه‌گیری ایمنوگلوبولین کل، میزان پروتئین سرم تعیین‌شده و سپس به نمونه موکوس پلی‌اتیلن گلایکول ۱۲ درصد اضافه شد. پس از ۲ ساعت در دمای اتاق نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و غلظت پروتئین در قسمت بالایی محلول مجدداً توسط روش بردفورد اندازه‌گیری گردید. میزان ایمنوگلوبولین کل از تفریق غلظت پروتئین در نمونه اولیه و غلظت پروتئین پس از افزودن پلی‌اتیلن گلایکول محاسبه شد (Siwicki and Anderson, 1993).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده های ژنتیکی

داده‌های مربوط به بیان نسبی ژن با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ ($\Delta\Delta Ct$) برابر است با ΔCt ژن هدف منهای ΔCt کالیبراتور) آنالیز و سچس توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح اطمینان ۹۵ درصد تست شدند. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد.

داده های ایمنی

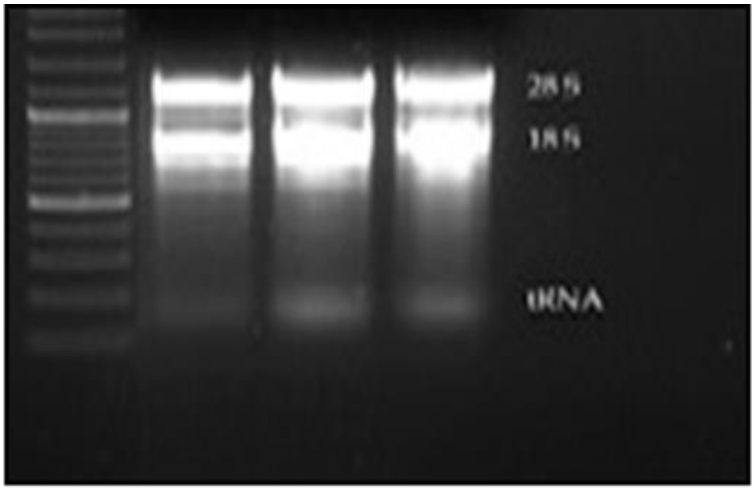
جهت آنالیز داده های ایمنی موکوسی نیز از آنالیز واریانس یکطرفه استفاده شد. بدین منظور ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولوموگروف-اسمیرنوف تست شد و آزمون لون نیز جهت بررسی برابری واریانس‌ها مورد استفاده قرار گرفت. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شد.

نتایج

بررسی کیفی و کمی RNA

نتایج کیفی RNA استخراج‌شده از مغز ماهیان کپور معمولی تغذیه‌شده با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پودر کنسانتره ماءالشعیر دو باند S ۱۸rRNA و ۲۸S را با وضوح بالا نشان داد (شکل ۱).

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.1.9]

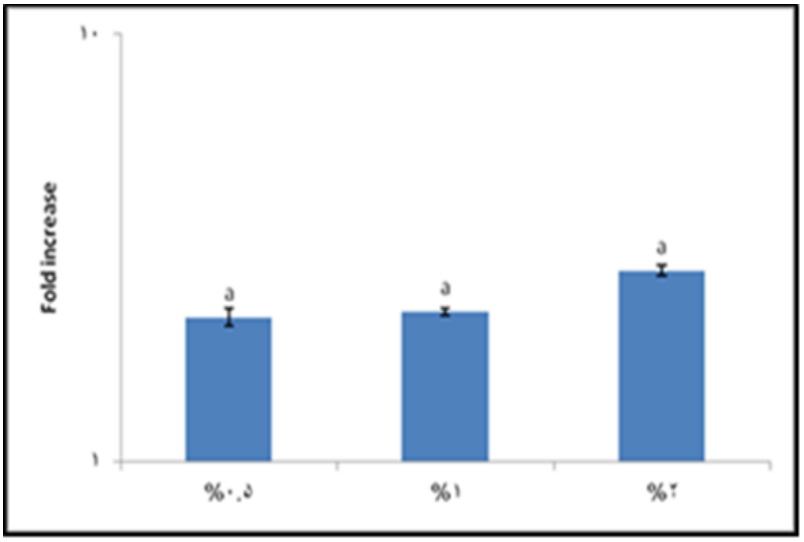


شکل ۱: کیفیت RNA استخراج شده از مغز ماهی کپور روی ژل آگارز ۱/۵٪ و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید. در نمونه‌های استخراج شده دوباند متعلق به ۱۸S rRNA و ۲۸S می‌باشند.

نسبت شدت جذب در نمونه‌های RNA استخراج شده در دو طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر در محدوده ۲/۱ –۱/۸ قرار داشت و هم‌چنین میزان جذب در طول موج‌های ۲۳۰، ۲۴۰ و ۳۲۰ نیز بیانگر قابلیت مناسب RNA در نمونه‌های مورد بررسی بود.

نتایج ارزیابی بیان ژن‌ها

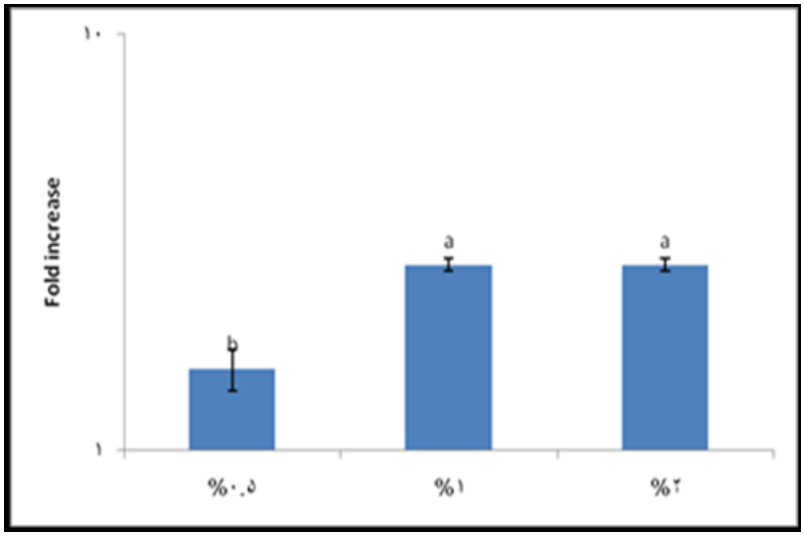
نتایج حاصل از ارزیابی بیان ژن‌های مرتبط با رشد (IGF1 و GH) در این تحقیق موید افزایش معنی‌دار بیان ژن GH در ماهیان تغذیه‌شده با پودر کنسانتره ماءالشعیر در مقایسه با تیمار شاهد بود (P≤۰/۰۵). اما بیان ژن IGF1 اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد (P≥۰/۰۵) (شکل ۲ و ۳).



شکل۲: تغییرات بیان نسبی ژن IGF1 به بتا اکتین در ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با کنسانتره ماءالشعیر. حروف کوچک اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین تیمارها را نشان می‌دهد.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.1.9]



شکل۳: تغییرات بیان نسبی ژن GH به بتا اکتین در ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با کنسانتره ماءالشعیر. حروف کوچک اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین تیمارها را نشان می‌دهد

ارزیابی شاخص‌های موکوس

میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و ایمونو گلوبولین کل موکوس بچه‌ماهی‌های تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی پودر کنسانتره ماءالشعیر به‌طور معنی‌داری بالاتراز تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵) (جدول ۳).

جدول۳- میزان آلکالین فسفاتاز و ایمونوگلوبولین کل در ماهیان تغذیه‌شده با سطوح مختلف پودر کنسانتره ماءالشعیر (میانگین± انحراف معیار)

	سطوح مختلف پودر کنسانتره ماءالشعیر			
	صفر	۰/۵ درصد	۱ درصد	۲ درصد
آلکالین فسفاتاز قلیایی (IU/I)	۹± ۱ c	۱۱±۲ c	۱۹± ۰/۸ b	۲۴± ۱/۵ a
ایمونوگلوبولین کل	۲۲± ۱/۵ d	۲۵± ۱/۱ c	۳۲± ۱ b	۳۴/۵± ۲ a

بحث

همان‌طورکه در بخش نتایج نشان داده شده است بررسی بیان ژن‌های مرتبط با رشد (GH و IGF1) در مطالعه حاضر نشان داد تغذیه ماهی کپورمعمولی به‌مدت ۸ هفته با جیره‌های غذایی حاوی پودرکنسانتره ماءالشعیرسبب افزایش بیان ژن‌های مذکور در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد شد، هر چند که این میزان افزایش بیان فقط در ژن GH معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) و بیان ژن IGF1 اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد (P>۰/۰۵). به‌نظر می‌رسد کنسانتره ماءالشعیر به دلیل داشتن گلوکان به‌عنوان یک پری-بیوتیک طبیعی عمل نموده و تأثیر مثبتی بر بیان ژن‌های

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.1.9]

رشد در ماهی کپور نشان داده است. اثرات مثبت گلوکان بر رشد و ایمنی آبزیان مشخص‌شده است (Misra *et al.*, 2006؛ Welker *et al.*, 2007؛ روفچائی و همکاران، ۱۳۹۱؛ Kuhlwein *et al.*, 2014). نتایج حاصل از بررسی حاصل با تحقیقات صورت‌گرفته درحیوانات تک‌معده‌ای که پری‌بیوتیک سبب بهبود سطح بیان ژن IGF1 و افزایش رشد می‌گردد مطابقت دارد. Kareem و همکاران (۲۰۱۶) با تجویز خوراکی پری‌بیوتیک اینولین به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، بیشترین میزان بیان ژن (IGF-l) را در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد مشاهده نمودند. نتایج تحقیقات اکرمی و همکاران (۱۳۹۳) نشان داد که پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید به‌ویژه در سطح ۳ درصد جیره آغازین لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) سبب بهبود عملکرد رشد و افزایش مقاومت در مقابله با استرس‌های محیطی شد. ماهی سیم دریایی (*Sparus aurat*) تغذیه شده با پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید عملکرد رشد بهتری را نسبت به تیمار شاهد داشتند (Gultepe *et al.*, 2010).

Harikrishnan و همکاران (۲۰۱۲)، از پری‌بیوتیک قارچ (*Inonotus obliquus*) در سطوح ۰/۱ و ۱ درصد در جیره ماهی هامور (*Epinephelus bruneus*) به‌مدت چهار هفته استفاده کردند که باعث افزایش رشد در تیمارهای حاوی قارچ نسبت به گروه شاهد شد. در بررسی Ghobadi و همکاران (۲۰۱۳) اثر مثبت سطوح متفاوت پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش شد. Kuhlwein و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده کردند که اضافه کردن بتاگلوکان به جیره کپور معمولی سبب افزایش معنی‌دار رشد نسبت به تیمار شاهد می‌شود.

پژوهش Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی اثرات مکمل‌های غذایی گالاکتوالیگوساکارید (GOS)، *Pediococcus acidilactici* و ترکیب *P. acidilactici* و GOS بر پاسخ ایمنی ذاتی، مخاط پوست و همچنین مقاومت در برابر بیماری قزل‌آلای رنگین‌کمان حاکی از افزایش قابل توجه پارامترهای پاسخ ایمنی در ایمنی ذاتی و موکوس سطح پوست قزل‌آلای رنگین‌کمان در سه رژیم غذایی مذکور است. پری‌بیوتیک‌ها ازطریق مکانیسم‌های مختلفی باعث بهبود متابولیسم مواد غذایی و در نتیجه افزایش رشد و همچنین بهبود وضعیت ایمنی در ماهی می‌شوند. یکی از عملکردهای مهم پری‌بیوتیک‌ها در روده میزبان، تولید اسیدهای چرب غیراشباع است که محرک رشد برخی ارگانیزم‌های مفید می‌باشد (Ringo *et al.*, 2014). درواقع پری‌بیوتیک‌ها از طریق تحریک رشد یا فعال کردن گونه‌های باکتریایی مفیدی که در روده وجود دارند سبب بهبود بافت‌های لمفوئیدی در ارتباط با دستگاه گوارش می‌شوند که درنتیجه بهبود وضعیت سلامت میزبان را به‌دنبال دارد (Kiron, 2012)، همچنین افزایش باکتری‌های مفید روده، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی ازجمله آمیلاز، پروتئاز و لیپاز در دستگاه گوارش می‌شود (Sako *et al.*, 2013؛ مرشدی و همکاران، ۱۳۹۴). ازسوی دیگر استفاده از جیره غذایی حاوی پری‌بیوتیک، افزایش جذب مواد معدنی را نیز به دنبال خواهد داشت (Vazquez *et al.*, 2005) و این موارد خود به معنی افزایش کارایی دستگاه گوارش و درنتیجه بهبود رشد و عملکرد میزبان است. اگرچه اختلافات جزئی در تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی بین ترکیبات پری‌بیوتیکی مختلف ناشی از نوع ترکیب، ساختارو منبع استحصال پری‌بیوتیک وجود

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.1.9]

دارد اما احتمالاً از طریق مکانیسم یکسانی می‌توانند بر سیستم ایمنی گونه آبزی اثرگذارند (Zhou *et al.*, 2010).

موکوس به‌دلیل دارا بودن ترکیبات فعال ایمنی همچون لیزوزیم، پروتئین‌ها، ایمنوگلوبولین‌ها، آنزیم‌ها، لکتین و غیره به‌عنوان یک عامل مؤثر در سیستم ایمنی می‌باشد (Palaksha *et al.*, 2008). نتایج مطالعه حاضر نشان داد به‌کارگیری سطوح مختلف پودر کنسانتره ماءالشعیر در جیره ماهی کپور معمولی سبب افزایش معنی‌ادار میزان آلکالین فسفاتاز وایمونوگلوبولین کل موکوس در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد گردید (P<۰/۰۵). ایمونوگلوبولین‌ها جزء آنتی‌بادی-های طبیعی بوده و به‌صورت کاملاً تنظیم‌شده در غیاب محرک آنتی‌ژنیک خارجی تولید می‌شوند و محافظت فوری و گسترده‌ای را در برابر عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌کنند. تغییر در سطوح ایمونوگلوبولین سرم خون به تبع استفاده از محرک‌های ایمنی گزارش شده است. آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی به‌دلیل فعالیت هیدرولیتیکی، به‌عنوان یک عامل ضدباکتریایی شناخته می‌شود و نیز در بهبود زخم و عفونت‌های انگلی نقش محافظتی دارد (Subramanian *et al.*, 2007). نتایج حاصل از بررسی Khodadadian Zou و همکاران (۲۰۱۶) بر اثر پری-بیوتیکی پودر قارچ در جیره بر ایمنی موکوس بچه‌ماهی کپور معمولی نشان داد که میزان فعالیت ایمنوگلوبولین کل موکوس نسبت به تیمار شاهد افزایش قابل توجهی از خود نشان داد. در بررسی عادل و همکاران (۱۳۹۳) افزایش میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز قلیائی و ایمنوگلوبولین موکوس در جیره غذایی فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک گروبیوتیک گزارش شد. به‌طوری‌که همزمان با افزایش غلظت پری‌بیوتیک مصرفی میزان این شاخص‌ها نیز روندی افزایشی داشته است. در بررسی اثر پری‌بیوتیک گالاکتوالیگوساکارید در تغذیه ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های ایمنی موکوس ازجمله ایمنوگلوبولین و آلکالین‌فسفاتاز در تیمارهای تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد نشان دادند (Kolangi Miandare, *et al.*, 2016). همچنین نتایج مشابهی در اثر استفاده از مکمل‌های غذایی دیگر مانند پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوس در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Panigrahi *et al.*, 2004) و پروبیوتیک اسیدلاکتیکی کاسترودیوم در جیره غذایی ماهی (*Miichthys miiuy*) (Song *et al.*, 2006) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماهی تایگر بارب (*Pentius tetrazona*) (Roosta and Hoseinifar, 2016) گزارش شده است.

باتوجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پودر کنسانتره ماءالشعیر می‌تواند سبب بهبود عملکرد رشد و ایمنی در ماهی کپور شود و شرکت‌های تولید غذای آبزیان می‌توانند جهت بهبود جیره غذایی، از این ماده طبیعی در فرمولاسیون غذایی خود استفاده نمایند.

سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی شرکت نیرو مالت خراسان انجام شده است و نویسندگان کمال تشکر را ازمدیریت آن شرکت دارند.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.1.9]

منابع

۱. اکرمی، ر.، ابراهیمی، ع.ر.، شاملوفر، م. و رازقی، م.، ۱۳۹۳. تأثیر پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* Wabaum, 1976) در برابر استرس‌های محیطی. نشریه پژوهش‌های ماه شناسی کاربردی، ۲(۳): ۴۲-۲۹.

۲. باعثی، ف.، آبرومند، ع.، ضیائی نژاد، س. و جواهری بابلی، م.، ۱۳۹۵. تاثیر لاکتوباسیلوس‌های تجاری بر پارامترهای رشد، بقا و شاخص‌های تغذیه‌ای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۰(۴): ۴۹-۳۹.

۳. درجانی ، پ. و صادقی ماهونگ، ع.ر.، ۱۳۹۰. استفاده از جو و غلات حاوی بتاگلوکان به عنوان غذاهای عملگرا. اولین سمینار ملی امنیت مواد غذایی دانشگاه سوادکوه، ۷-۱.

۴. راستی، ش. و عزیزی، م.ح.، ۱۳۹۰. استخراج بتا-گلوکان جو و تاثیر آن بر برخی خواص رئولوژیکی خمیر گندم. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۶(۴): ۵۸-۵۱.

۵. عادل، م.، صفری، ر.، نعمت‌الهی، ا.، یگانه، س. و احمدوند، ش.، ۱۳۹۳. تاثیر سطوح مختلف پربیوتیک گروبیوتیک بر فعالیت ضد باکتریایی و برخی از شاخص‌های ایمنی موکوس فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی. بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۳(۳): ۱۱۰-۹۹.

۶. مرشدی، و.، آق، ن.، مرمضی، ج.، نوری، ف. و محمدیان، ت.، ۱۳۹۴. بررسی فعالیت‌ها آنزیم‌های گوارشی، ترکیب بیوشیمیایی لاشه و فلور باکتریایی روده بچه‌ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*) در پاسخ به سطوح مختلف زایلواولیگوساکارید جیره. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۸(۴): ۴۷-۳۷.

۷. واحدی امیری، ف.، صفری، ر.، شعبانی، ع.، حسینی‌فر، س. ح. وکلنگی میاندره، ح.، ۱۳۹۷. اثرات به‌کارگیری عصاره هیدروالکلی آنغوزه در جیره بر بیان ژن‌های مرتبط با دفاع آنتی اکسیدانی و رشد در ماهی گورخری (*Danio* rerio). نشریه توسعه آبزی‌پروری، ۱۲(۱): ۹۸-۸۹.

8. Ardo, L., Yin, G., Xu, P., Varadi, L., Szigeti, G. & Jeney, Z., 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against (*Aeromonas hydrophila*). Aquaculture, 275: 26-33.
9. Beckman, B.R., Shimizu, M.G., Gadberry, B.A., Parkins, P.J. & Cooper, KA., 2004. The effect of temperature change on the relations among plasma IGF-1, 41- kDa IGFBP and growth rate in post smolt coho salmon. Aquaculture, 241: 601–19.
10. Beckman, B.R., 2011. Perspectives on concordant and discordant relations between insulin-like growth factor 1 (IGF1) and growth in fishes. General and Comparative Endocrinology, 170(2): 233–52.
11. Bessey, O.A., Lowry, O.H. & Brock, M.J., 1946. Rapid coloric method for determination of alkaline phosphatase in five cubic millimeters of serum. Biological Chemistry, 164: 321–329.
12. Devoutly, K., StewartS, H. & Theakston, J.A., 2006. Is beer the drink of choice for women with alcohol use problems? Positive alcohol outcome expectancies as a function of beverage type. Addictive Behaviors, 31(7): 1133-43.
13. Ghobadi, Sh., Amani Denji, K., Akrami, R., Razeghi Mansour, M. & Shoaei, R.,

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.1.9]

2013. Effect of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, survival, body composition and intestinal microflora in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juvenile. Journal of Development Aquaculture, Islamic Azad University, Lahijan Branch, 7: 73-85.

14. Gultepe, N., Salnur, S., Hossu, B. & Hisar, O., 2010. Dietary supplementation with Mannan oligosaccharides (MOS) from Bio-Mos enhances growth parameters and digestive capacity of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture Nutrition, 17: 482-487.
15. Harikrishnan, R., Balasundaram, C. & Heo, M.S., 2012. Effect of Inonotus obliquus enriched diet on hematology, immune response and disease protection in kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) against *Vibrio harveyi*. Aquaculture, 344-349, 48-53.
16. Hoseinifar, S.H. & Mirvaghefi, A., Amoozegar, M.A., Sharifian, M., Esteban, M.A., 2015. Modulation of innate immune response, mucosal parameters and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) upon synbiotic feeding. Fish and Shellfish Immunology, 45: 27-32.
17. Kareem, K.Y., Loh, T.C., Foo, H.L., Akit, H. & Samsudin, A.A., 2016. Effects of dietary postbiotic and inulin on growth performance, IGF1 and GHR Mrna expression, faecal microbiota and volatile fatty acids in broilers. BMC Veterinary Research, 12: 163, 1-10.
18. Kiron, V., 2012. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. Animal Feed Science and Technology, 173: 111–133.
19. Khodadadian Zou, H., Hoseinifar, H. & Kolangi Miandare, H., Hajimoradloo, A.B., 2016. *Agaricus bisporus* powder improved cutaneous mucosal and serum immune parameters and up-regulated intestinal cytokines gene expression in common carp (*Cyprinus carpio*). Fish and Shellfish Immunology, 1-16.
20. Kolangi Miandare, H., Farvardin, SH., Shabani, A., Hoseinifar, S.H., 2016. The effects of galacto oligosaccharide on systemic and mucosal immune response, growth performance and appetite related gene transcript in goldfish (*Carassius auratus gibelio*). Fish and shellfish immunology, 55: 479-483.
21. Kuhlwein, H., Merrifield, D., Rawling, M., Foey, A. & Davies, S., 2014. Effects of dietary β- (1,3)(1, 6)- D- glucan supplementation on growth performance, intestinal morphology and haemato- immunological profile of mirror carp (*Cyprinus carpio* L.). Journal of Animal Physiology and animal nutrition, 98: 279-289.
22. Liu, B., 2013. Effects of mannan oligosaccharide on the physiological responses, HSP70 gene expression and disease resistance of Allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) under *Aeromonas hydrophila* infection. Fish and shellfish immunology, 34(6): 1395-1403.
23. Lourdes, F., Rafael, B., Carmen, G., Cristina, S., Ana Beatriz, R. & Carmen, B., 2013. Effects of beer, Hops (*Humulus lupulus*) on total antioxidant capacity in plasma of stressed subjects. Cell Membranes and Free Radical Research, 5 (1): 232-235.
24. Misra, C.K., Das, B.K., Mukherjee, S.C. & Pattnaik, P., 2006. Effect of multiple injections of ß-glucan on non-specific immune response and disease resistance in (*Labeo rohita*) fingerlings. Fish and Shellfish Immunology, 20: 305-319.
25. Palaksha, K, J., Shin, G.W., Kim, Y.R. & Jung, T.S., 2008. "Evaluation of non-specific immune components from the skin mucus of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*)," Fish and Shellfish Immunology, 24(4): 479–488.
26. Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, H. & Sugita, H., 2004. Immune responses in rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) induced by a potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). Veterinary Immunology and Immunopathology, 102: 379-388.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.1.9]

27. Polak, J., Bartoszek, M. & Stanimirova, A., 2013. Study of the antioxidant properties of beers using electron paramagnetic resonance. Food Chemistry, 141(3): 3042-9.
28. Ringo, E., Dimitroglou, A. & Hosseinifar, S. H., 2014. Prebiotics in Finfish: An Update. Aquaculture nutrition: gut health, probiotics and prebiotics. Wiley-Blackwell scientific Publication. 360 pp.
29. Roosta, Z. & Hoseinifar, S.H., 2016. The effects of crowding stress on some epidermal mucus immune parameters, growth performance and survival rate of Tiger barb (*Pentius tetrazona*). Aquaculture Research, 47: 1682–1686.
30. Safari, R., Hoseinifar, S.H., Nezhadmoghadam, SH. & Jafar Node, A., 2016. Transciptomic study of mucosal immune, antioxidant and growth related genes and non-specific immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed dietary Ferula (*Ferula assafoetida*). Fish and Shellfish Immunology, 31: 1-16.
31. Sako, T., Matsumoto, K. & Tanaka, R., 1999. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. International Dairy Journal, 9: 69–80.
32. Sirimanapong, W., Adams, A., Ooi, E.L., Green, D.M., Nguyen, D.K., Browdy, C.L., Collet, B. & Thompson, K.D., 2015. The effects of feeding immuno stimulant β-glucan on the immune response of *Pangasianodon hypophthalmus*. Fish and Shellfish Immunology, 45: 357-366.
33. Siwicki, A. & Anderson, D., 1993. Nonspecific defence mechanisms assay in fish II; Potential killing activity of neutrophils and manocytes, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum, Fish Disease diagnostic preservation method. 105-111.
34. Song, Z., Wu, T., Cai, L., Zhang, L. & Zheng, X., 2006. Effects of dietary supplementation with *Clostridium butyricumon* the growth performance and humoral immune response in (*Miichthys miiuy*). Journal of Zhejiang University B, 7(7): 596-602.
35. Subramanian, S., MacKinnon, S.L. & Ross, N.W., 2007. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. Comparative Biochemistry and Physiology B, 148(3): 256–263.
36. Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, D., Robaina, L., Real, F., Sweetman, J., Tort, L. & Izquierdo, M.S., 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish and Shellfish Immunology, 23: 969-981.
37. Vazquez, J.A., Gonzalez, M. & Murado, M., 2005. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. Aquaculture, 245: 149-161.
38. Vinson, J.A., Mandarano, M., Hirst, M., Trevithick, J.R.: Bose, P., 2003. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Beers and the effect of two types of beer on an animal model of atherosclerosis. Journal of Food Chemistry, 51: 5528-5533.
39. Welker, T., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R. & Klesius, P.H., 2007. Immune response and resistance to stress and (*Edwardsiella ictaluri*) challenge in channel catfish, (*Ictalurus punctatus*), fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcompanents. Journal of the World Aquaculture Society, 38(1): 24-35.
40. Zhou, Q.C., Buentello, J.A. & Gatlin, D.M., 2010. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture, 309: 253-257.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1399.14.1.1.9]