

اثرات پودر کنسانتره ماءالشعیر بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد و ایمنی موکوس در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

رقیه صفری^{*}، محمدرضا ایمانیپور^۱، ولی اله جعفری^۱، شبنم نژاد مقدم^۱

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

صندوق پستی: ۴۹۱۷۸-۵۷۴۷۸

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 (ایمونوگلوبولین و آلكالین فسفاتاز) ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۱۸۰ قطعه ماهی کپور با میانگین وزنی 12.5 ± 2 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، سنتز cDNA با استفاده از کیت Suprime Script RTase انجام و سنجش بیان ژن‌های مرتبط با رشد GH (در بافت مغز) و IGF1 (در بافت کبد) با استفاده از Real Time PCR انجام شد. شاخص‌های ایمنی موکوس (ایمونوگلوبولین و آلكالین 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 ($P < 0.05$). اما بیان ژن IGF1 اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ($P < 0.05$). میزان فعالیت آنزیم آلكالین فسفاتاز و ایمونوگلوبولین کل موکوس بچه‌ماهی‌ها در تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی پودر کنسانتره ماءالشعیر به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($P < 0.05$). 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.

مقدمه

در طی چنددهه گذشته، صنعت آبی پروری دارای سریع ترین رشد در بخش تولید مواد غذایی در جهان می باشد. تولید ماهی در طول دوره پرورش با عوامل محدودکننده از جمله بیماری ها و شرایط نامطلوب روبرو است. با توجه به این که افزایش رشد و بازدهی همراه با پیش گیری از بیماری در مزارع آبی پروری یکی از راه کارهای مدیریتی است و تغذیه نیز یکی از فاکتورهای اصلی هزینه در آبی پروری می باشد (۶۰ تا ۷۰ درصد هزینه ی کل تولید)، لذا استفاده از رژیم های غذایی مناسب که با بهبود عملکرد رشد و ایمنی بتواند اثرات مطلوب را ایجاد نماید یکی از ضرورت ها در بحث مدیریت تغذیه و بهداشتی مزارع پرورشی آبی پروری است. تمایل شدید به حذف آنتی بیوتیک ها در آبی پروری به علت هزینه بالا، ایجاد مقاومت دارویی، مشکلات زیست محیطی، پایین آوردن کیفیت گوشت و مشکلات اجرایی تجویز دارو باعث شده است توجه به محرک های ایمنی به عنوان جایگزینی برای درمان آنتی بیوتیکی بیشتر مورد توجه واقع گردد (Ardo et al., 2008; Liu, 2013;). امروزه تلاش بر این است که مکمل های غذایی با منشأ طبیعی نظیر پروبیوتیک ها، پری بیوتیک ها، گیاهان و عصاره های آنها مورد استفاده قرار گیرد. ماءالشعیر نوشیدنی است که از عصاره جوانه جو بدست می آید. غلاتی مانند جو منابع خوبی از بتا گلوکان، آرایینوگزیلان و الیگوساکاریدهایی مثل گالاکتو و فروکتو الیگوساکارید و نشاسته مقاوم هستند که می توانند به عنوان پری بیوتیک عمل نموده و به طور 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، ۱۳۹۷ و باعشی و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین ماءالشعیر به علت دارا بودن مالت و رازک سرشار از آنتی اکسیدان های مختلف است (Vinson et al., 2003). پری بیوتیک ها پلی ساکاریدهای غیرقابل هضم اند که به طور غیرمستقیم و انتخابی با تأثیر بر پروبیوتیک ها باعث تغییر فلور باکتریایی مفید و همزیست در دستگاه گوارش ماهی می شود و در نتیجه سبب بهبود رشد و سلامتی میزبان می گردد (Ringo et al., 2014). پودر کنسانتره ماءالشعیر محصولی است که از خشک نمودن عصاره مالت تولید شده و امروز به عنوان مکمل غذایی در جیره غذایی طیور استفاده می گردد. مطالعات متعددی در خصوص اثر مثبت ماءالشعیر بر انسان گزارش شده است که می توان به بهبود متابولیسم چربی ها، پیش گیری از استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی که منجر به اثرات حفاظتی در قلب می گردد، 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 می تواند با فعالیت مستقیم روی بافت هدف رشد را تحریک کند. گزارش شده است که سطوح IGF1، سطح تغذیه و نرخ رشد باهم در ارتباط می باشند (Beckman et al., 2004). غده هیپوفیز با ترشح هورمون رشد (GH) موجب تحریک کبد جهت تولید IGF1 با فعال کردن گیرنده های GH می شود. با این حال دست کاری جیره های غذایی موجب افزایش پاسخ گیرنده های GH در بافت کبد می شوند. بنابراین می توان سطح IGF1 را با تحت تأثیر قرار دادن

مرکز تحقیقات آبرزی پروری شهید فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. ماهیان در بدو ورود با آب نمک ۲٪ ضدعفونی و به مدت 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 25 ± 2 درجه سانتی گراد، اکسیژن و pH آب به ترتیب 7.9 ± 0.15 میلی گرم بر لیتر و 7 ± 0.2 بود.

آماده سازی جیره های آزمایشی

پودر کنسانتره ماءالشعير از شرکت نیرو مالت خراسان تهیه شد. باتوجه به نتایج حاصل از زیست-سنجی هر یک از مخازن پرورشی، جیره غذایی حاوی سطوح مختلف از پودر کنسانتره ماءالشعير با دوزهای ۰، ۵/۱، ۱ و ۲ درصد، با پودر کردن غذای پایه و افزودن این میزان به غذا، سپس مخلوط به هم زده شد تا به صورت 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 تهیه شده تا زمان استفاده در دمای یخچال (۴ درجه سانتی گراد) نگهداری گردید. غذادهی در ۳ نوبت بر اساس ۳ درصد وزن بدن انجام می شد.

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

ایمنی موکوسی یکی از بخش های مهم سیستم ایمنی غیر اختصاصی می باشد و به عنوان یک مخزن بیولوژیکی متشکل از مواد فعال و مولکول های ایمنی متعدد از جمله لیزوزیم، پروتئین ها، ایموگلوبین ها، آنزیم ها، لکترین و غیره می باشد و در زمان آسیب بافتی و تهاجم عوامل بیماری زا اثرات مستقیمی بر پاتوژن ها دارند (Palaksha et al., 2008).

مطالعات متنوعی در رابطه با تأثیر جیره های حاوی پری بیوتیک بر رشد و تقویت عملکرد ایمنی در گونه های مختلف ماهی انجام شده است (Torrecillas et al., 2007; Gultepe et al., 2010; Ghobadi et al., 2015; Sirimanapong et al., 2013)، اما تاکنون در زمینه استفاده پودر کنسانتره ماءالشعير در آبرزی پروری مطالعه ای انجام نشده است، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات تغذیه ای پودر کنسانتره ماءالشعير بر بیان ژن های مرتبط با رشد و شاخص های ایمنی موکوس ماهی کپور معمولی صورت پذیرفت.

مواد و روش ها

تهیه، ذخیره سازی و تقسیم ماهیان

این مطالعه طی مدت ۶۰ روز و در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. ۳۶۰ قطعه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی 12.5 ± 2 گرم از پرورش ماهیان گرمابی در استان گلستان تهیه شدند و به آزمایشگاه

جدول ۱: 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

نمونه برداری

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

نمونه برداری، استخراج RNA و سنتز cDNA

جهت بررسی میزان بیان ژن مرتبط با رشد (IGF1 و GH) در شرایط استریل از بافت های مغز و کبد نمونه برداری صورت گرفت. ماهیان در زمان نمونه برداری ابتدا توسط پودر گل میخک با دوز ۲۰۰ ppm بیهوش و کشته شدند. سپس بافت های مورد نظر جدا شده و داخل تیوپ های از قبل استریل شده قرار گرفته و بلافاصله تیوپ ها به تانک ازت انتقال داده شدند. در پایان نمونه برداری نمونه ها تا زمان استفاده جهت استخراج RNA در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. جهت استخراج RNA نمونه ها 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 آزمایش ها در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. واکنش qPCR بعد از بهینه سازی دما و مواد مصرفی، در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با استفاده از پرایمر qPCR طراحی شده برای ژن های مورد نظر و ژن رفرنس بتا اکتینین (Safari et al., 2016) (جدول ۲) توسط کیت سایر گرین در دستگاه iQ5 شرکت (BIO-RAD, USA) و با استفاده از نرم افزار بایورد iQ5 اپتیکال برای هر نمونه در ۳ تکرار بیولوژیکی و ۳ تکرار تکنیکی انجام شد. از آنجایی که در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد محصول غیراختصاصی و دایمر مشاهده نشد، این دما به عنوان دمای واکنش در نظر گرفته شد.

جدول ۲: توالی آغازگرهای استفاده شده

نام پرایمر	مشخصات پرایمر	کارایی	دمای اتصال
GH	Forward: TCTTCGCATCTCTTTTCACC Reverse: AGTCGCCAGCTTCTCA	٪۹۹	۶۰
IGF1	Forward: GGCATTGGTGTGATGTCTTT Reverse: ATATCCTGTCCGTTTGCTG	٪۹۹	۶۰
B-ctin	Forward: GACATCAGGGTGTTCATGGTTGGT Reverse: CTCAAACATGATCTGTGTCAT	٪۹۹	۶۰

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 (Eppendorf, 5810R, 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 تعیین شده و سپس به نمونه موکوس پلی‌اتیلن گلیکول 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 گلیکول محاسبه شد (Siwicki and Anderson, 1993).

تجزیه و تحلیل داده‌ها داده‌های ژنتیکی

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

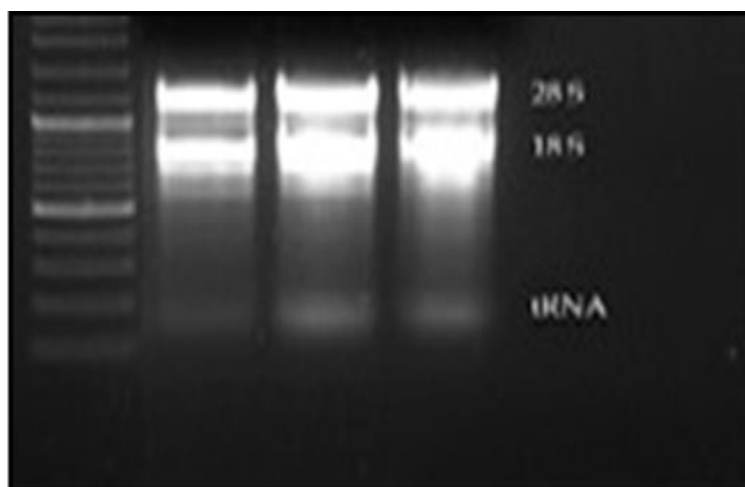
داده‌های ایمنی

جهت آنالیز داده‌های ایمنی موکوسی نیز از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. بدین منظور ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-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 به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نمایش داده شد.

نتایج

بررسی کیفی و کمی RNA

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



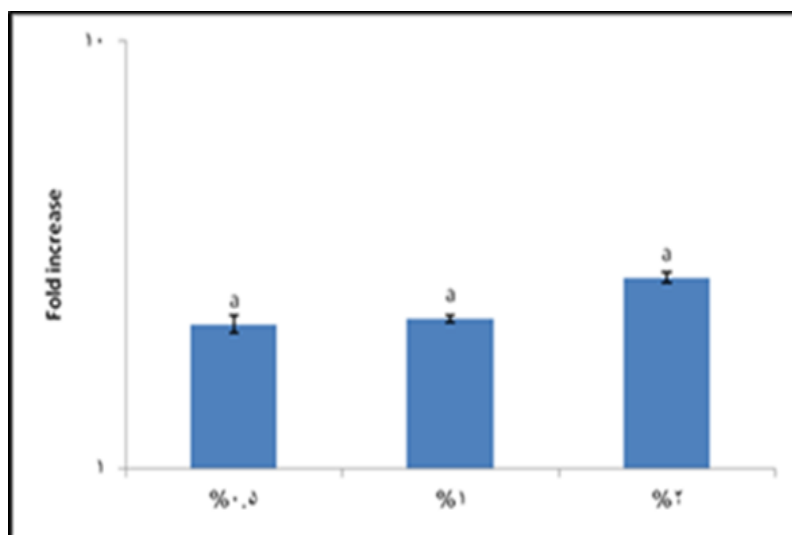
شکل ۱: کیفیت RNA استخراج شده از مغز ماهی کپور روی ژل آگارز ۱/۵٪ و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید. در نمونه های استخراج شده دوباند متعلق به ۲۸S و ۱۸S rRNA می باشند.

نتایج ارزیابی بیان ژن ها

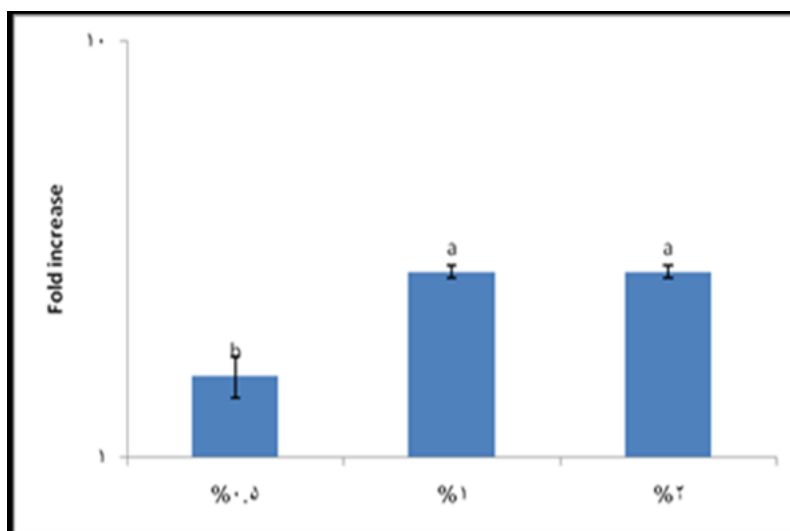
نتایج حاصل از ارزیابی بیان ژن های مرتبط با رشد (IGF1 و GH) در این تحقیق موید افزایش معنی دار بیان ژن GH در ماهیان تغذیه شده با پودر کنسانتره ماء الشعیر در مقایسه با تیمار شاهد بود ($P \leq 0.05$). اما بیان ژن IGF1 اختلاف معنی داری بین تیمارها نشان نداد ($P \geq 0.05$) (شکل ۲ و ۳).

نسبت شدت جذب در نمونه های RNA استخراج

شده در دو طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر در محدوده ۲/۱-۱/۸ قرار داشت و هم چنین میزان جذب در طول موج های ۲۳۰، ۲۴۰ و ۳۲۰ نیز بیانگر قابلیت مناسب RNA در نمونه های مورد بررسی بود.



شکل ۲: تغییرات بیان نسبی ژن IGF1 به بتا اکتین در ماهی کپور معمولی تغذیه شده با کنسانتره ماء الشعیر. حروف کوچک اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) بین تیمارها را نشان می دهد.



شکل ۳: تغییرات بیان نسبی ژن GH به بتا اکتین در ماهی کپور معمولی تغذیه شده با کنسانتره ماءالشعير. حروف کوچک اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) بین تیمارها را نشان می‌دهد

معنی‌داری بالاتراز تیمار شاهد بود ($P < 0.05$)

(جدول ۳).

ارزیابی شاخص‌های موکوس

میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و ایمونو

گلوبولین کل موکوس بچه‌ماهی‌های تیمارهای

تغذیه شده با جیره حاوی پودر کنسانتره ماءالشعير به‌طور

جدول ۳- میزان آلکالین فسفاتاز و ایمونوگلوبولین کل در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف پودر کنسانتره ماءالشعير

(میانگین $\pm$ انحراف معیار)

سطوح مختلف پودر کنسانتره ماءالشعير				
۲ درصد	۱ درصد	۰/۵ درصد	صفر	
24 ± 1.5^a	19 ± 0.8^b	11 ± 2^c	9 ± 1^c	آلکالین فسفاتاز
				قلیایی (IU/l)
$34/5 \pm 2^a$	32 ± 1^b	$25 \pm 1/1^c$	$22 \pm 1/5^d$	ایمونوگلوبولین کل

بحث

همان‌طور که در بخش نتایج نشان داده شده است

بررسی بیان ژن‌های مرتبط با رشد (GH و IGF1) در

مطالعه حاضر نشان داد تغذیه ماهی کپور معمولی به-

مدت ۸ هفته با جیره‌های غذایی حاوی پودر کنسانتره

ماءالشعير سبب 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

($P < 0.05$) و بیان ژن IGF1 اختلاف معنی‌داری بین

تیمارها نشان نداد ($P > 0.05$). به‌نظر می‌رسد کنسانتره

ماءالشعير به دلیل داشتن گلوکان به‌عنوان یک پری-

بیوتیک طبیعی عمل نموده و تأثیر مثبتی بر بیان ژن‌های

رشد در ماهی کپور نشان داده است. اثرات مثبت گلوکان بر رشد و ایمنی آبزیان مشخص شده است (Welker et al., 2007؛ Misra et al., 2006؛ روفچائی و همکاران، ۱۳۹۱؛ Kuhlwein et al., 2014). نتایج حاصل از بررسی حاصل با تحقیقات صورت گرفته در حیوانات تک‌معدده‌ای 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-1) 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 از طریق 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 لمفونیدی در ارتباط با دستگاه گوارش می‌شوند که در نتیجه بهبود وضعیت سلامت میزبان را به‌دنبال دارد (Kiron, 2012)، همچنین افزایش باکتری‌های مفید روده، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی از جمله 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 در نتیجه بهبود رشد و عملکرد میزبان است. اگرچه اختلافات جزئی در تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی بین ترکیبات پری‌بیوتیکی مختلف ناشی از نوع ترکیب، ساختار و منبع استحصال پری‌بیوتیک وجود

دارد اما احتمالاً از طريق مکانيسم يکسانی می‌توانند بر سيستم ایمنی گونه آبنزی اثر گذارند (Zhou et al., 2010).

موکوس به دليل دارا بودن ترکیبات فعال ایمنی همچون لیزوزیم، پروتئين‌ها، ایمنوگلوبولين‌ها، آنزيم‌ها، لکٲين و غيره به عنوان یک عامل مؤثر در سيستم ایمنی می‌باشد (Palaksha et al., 2008). نتایج مطالعه حاضر نشان داد به کارگیری سطوح مختلف پودر کنسانتره ماءالشعير در جيره ماهی کپور معمولی سبب افزایش معنی‌دار میزان آلکالين فسفاتاز و ایمنوگلوبولين کل موکوس در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد گردید ($P < 0.05$). ایمنوگلوبولين‌ها جزء آنتی‌بادی‌های طبیعی بوده و به صورت کاملاً تنظیم‌شده در غیاب محرک آنتی‌ژنیک خارجی تولید می‌شوند و محافظت فوری و گسترده‌ای را در برابر عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌کنند. تغییر در سطوح ایمنوگلوبولين سرم خون به تبع استفاده از محرک‌های ایمنی گزارش شده است. آنزيم‌های فسفاتاز قلیایی به دليل فعالیت هیدرولیتیکی، به عنوان 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 پری‌بیوتیکی پودر قارچ در جیره بر ایمنی موکوس بچه‌ماهی کپور معمولی نشان داد که میزان فعالیت ایمنوگلوبولين کل موکوس نسبت به تیمار شاهد افزایش قابل توجهی از خود نشان داد. در بررسی عادل و همکاران (۱۳۹۳) افزایش میزان فعالیت آلکالين فسفاتاز قلیایی و ایمنوگلوبولين 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 از جمله ایمنوگلوبولين و آلکالين فسفاتاز 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 ماءالشعير 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 از مدیریت آن شرکت دارند.

منابع

- گوارشی، ترکیب بیوشیمیایی لاشه و فلور باکتریایی روده بچه ماهی صیبتی (*Sparidentex hasta*) در پاسخ به سطوح مختلف زایلواولیگوساکارید جیره. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۸(۴): ۳۷-۴۷.
۷. واحدی امیری، ف.، صفری، ر.، شعبانی، ع.، حسینی فر، س. ح. و کلنگی میاندره، ح.، ۱۳۹۷. اثرات به کارگیری عصاره هیدروالکلی آنگوزه در جیره بر بیان ژنهای مرتبط با دفاع آنتی اکسیدانی و رشد در ماهی گورخری (*Danio rerio*). نشریه توسعه آبی پروری، ۱۲(۱): ۸۹-۹۸.
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, K.A., 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., Stewart, 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. & Shoaee, R.,

۱. اکرمی، ر.، ابراهیمی، ع. ر.، شاملوفر، م. و رازقی، م.، ۱۳۹۳. تأثیر پری بیوتیک مانان الیگوساکارید بر عملکرد رشد، بازماندگی و مقاومت لارو ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Wabbaum, 1976) در برابر استرس های محیطی. نشریه پژوهش های ماه شناسی کاربردی، ۲(۳): ۲۹-۴۲.
۲. باعشی، ف.، آبرومند، ع.، ضیائی نژاد، س. و جواهری بابلی، م.، ۱۳۹۵. تأثیر لاکتوباسیلوس های تجاری بر پارامترهای رشد، بقا و شاخص های تغذیه ای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشریه توسعه آبی پروری، ۱۰(۴): ۳۹-۴۹.
۳. درجانی، پ. و صادقی ماهونگ، ع. ر.، ۱۳۹۰. استفاده از جو و غلات حاوی بتا گلوکان 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 تأثیر آن بر برخی خواص رئولوژیکی خمیر گندم. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۶(۴): ۵۱-۵۸.
۵. عادل، م.، صفری، ر.، نعمت الهی، ا.، یگانه، س. و احمدوند، ش.، ۱۳۹۳. تأثیر سطوح مختلف پری بیوتیک گرو بیوتیک بر فعالیت ضد باکتریایی و برخی از شاخص های ایمنی موکوس فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی. بهره برداری و پرورش آبزیان، ۳(۳): ۹۹-۱۱۰.
۶. مرشدی، و.، آق، ن.، مرمضی، ج.، نوری، ف. و محمدیان، ت.، ۱۳۹۴. بررسی فعالیت ها آنزیم های

- 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 β -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.
 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, S.H., Shabani, A., Hoseinifar, S.H., 2016. The

- supplementation with *Clostridium butyricum* on 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 subcomponents. 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.
 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 (*Puntius tetrazona*). Aquaculture Research, 47: 1682-1686.
 30. Safari, R., Hoseinifar, S.H., Nezhadmoghadam, S.H. & Jafar Node, A., 2016. Transcriptomic 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 monocytes, 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