مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

تاثیر عصاره گیاهی شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) بر بیان ژن‌های دخیل در ایمنی غیر اختصاصی بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

ولی اله جعفری*، حامد پاک نژاد، مرجان حسینی

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

نوع مقاله
پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۷
تاریخ چاپ الکترونیک: ۱۴۰۲/۰۹/۳۰

***نویسنده مسئول:**

V.jafari.sh110@gmail.com

چکیده

طی دهه‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به‌منظور افزایش رشد و ارتقای سیستم ایمنی مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. این مطالعه به‌منظور نشان دادن اثر مکمل گیاهی عصاره شیرین بیان *Glycyrrhiza glabra* L. بر بیان ژن‌های فاکتور شبه انسولینی (IGF) ، فاکتور نکروز کننده تومور (TNF) و لیزوزیم (Lyz) در بچه‌ماهیان کپور معمولی *Cyprinus carpio* انجام شد. ماهیان با میانگین وزنی ۹/۰±۰۸/۰۵ گرم به چهار گروه (هر گروه شامل سه تکرار) تقسیم شدند و با جیره‌های حاوی عصاره شیرین بیان در سطوح متفاوت صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد به مدت ۵۶ روز تغذیه شدند. پس از پایان دوره پرورش نتایج نشان داد که با افزایش سطح مصرف عصاره شیرین بیان میزان افزایش وزن و نرخ رشد ویژه افزایش یافت و بالاترین مقادیر در ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد بود که اختلاف معنی-داری با شاهد و سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی نیز در تیمار ۲ درصد بود. بیان ژن IGF نیز به‌صورت قابل ملاحظه‌ای در تیمار ۲ درصد بالاتر بود (P<۰/۰۵). سطح بیان ژن لیزوزیم نیز در تیمار ۲ درصد بالاتر از سایر گروه‌ها بود و اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). همچنین سطح ۰/۵ درصد عصاره باعث افزایش سطح بیان ژن TNF گردید که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). با توجه به نتایج این تحقیق عصاره شرین بیان می‌تواند باعث افزایش رشد به واسطه افزایش بیان بیان ژن IGF و همچنین بهبود سیستم ایمنی غیر اختصاصی کپور معمولی از طریق افزایش بیان ژن‌های لیزوزیم و فاکتور نکروز کننده تومور شود.

کلید واژه‌ها: بیان ژن، لیزوزیم، عصاره شیرین بیان، TNF, IGF

مقدمه

در دهه‌های اخیر توسعه آبزی‌پروری و کشت متراکم جهت افزایش تولید سبب بروز عوامل بیماری‌زا شده است از این‌رو مطالعات در خصوص سیستم ایمنی بدن ماهی و ایجاد مقاومت در برابر بیماری‌ها افزایش پیدا کرده است (Magnadottir, 2010). با توجه به این‌که هدف اصلی آبزی‌پروری درآمدزایی می‌باشد و ۵۰ درصد هزینه‌های متغیر در آبزی‌پروری مربوط به خوراک می‌باشد، استفاده از راهبردهای مناسب در تغذیه می‌تواند اثر قابل توجهی بر بهینه‌سازی سود داشته باشد. همچنین اگر بازماندگی ماهیان تا زمان رسیدن به وزن بازارپسندی افزایش یابد هزینه‌های بعدی پرورش کاهش می‌یابد (Cerezuela *et al*., 2011)

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

استفاده از محرک‌های ایمنی می‌تواند یک روش امیدوار کننده در فرایند پیشگیری از بیماری محسوب شود که به حفظ شرایط بهینه ماهی کمک می‌کند استفاده از این روش درصورتی‌که افزایش تولید و سود را به‌دنبال داشته باشد می‌تواند یک شیوه کاربردی در امر آبزی‌پروری باشد (Bahi *et al*., 2017)

هزینه‌های تغذیه و شیوع بیماری دو عامل مهم محدود کننده در آبزی‌پروری می‌باشند. بنابراین بهبود کیفیت تغذیه به‌همراه افزایش ایمنی ماهی تاثیر به‌سزایی بر رشد و سودآوری در تمام مراحل آبزی‌پروری خواهد داشت (Abu-Elala *et al*., 2013). در سال‌های اخیر استفاده از مکمل‌های غذایی طبیعی جهت پیشگیری و کنترل بیماری مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. در بسیاری از کشورها استفاده از گیاهان دارویی به‌دلیل دارا بودن طیف وسیعی از خواص مفید از جمله تحریک و تقویت سیستم ایمنی به‌منظور افزایش پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی افزایش یافته است (Guardiola *et al*., 2016). استفاده از گیاهان دارویی در جیره غذایی ماهی، موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی مانند افزایش فعالیت لیزوزیم، پاسخ آنتی‌بادی و افزایش بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی در ماهی می‌شود (Harikrishnan *et al*., 2011). مطالعات گسترده‌ای در ارتباط با اثرات مثبت استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان جایگزینی برای مواد شمیایی در جیره آبزیان صورت گرفته است که می‌توان به بررسی اثر عصاره سرخار گل (*Echinacea purpurea*) بر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Pourgholam *et al*., 2013)، عصاره خرما و گیاه غازیاقی (*Falcaria vulgaris*) بر روی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Chobkar, 2015)، (Hoseinifar *et al*., 2016)، گیاه گون (*Astragalus membranaceus*) و شیرین بیان (*Glycyrrhizaglabra*) بر ماهی سوف زرد (*Percafla vescens*) (Elabd *et al*., 2016) و گیاه سیر بر ماهی (*Lates calcarifer*) (Taplur, 2012) اشاره کرد.

گیاه شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra*، گیاهی چند ساله از خانواده بقولات (Fabaceae) می‌باشد (Amani *et al*, 2005). ریشه و ریزوم‌های شیرین بیان مصارف دارویی گسترده دارند. مواد فعال آن شامل ساپونین‌ها، فلاونوئیدها و ایزوفلاونوئیدها، کومارین‌ها، استیل بنوئیدها و سایر ترکیبات مانند اسیدهای چرب، فنول‌ها، اسپاراژین، گلوکز، ساکارز و استرون می‌باشند. اصلی‌ترین مواد مؤثر آن، glycyrrhizinic acid (جزء ساپونین‌ها)، glabridin (جزء ایزوفلاونوئیدها) و Isoliquiritigenin (جزء فلاونوئیدها) می‌باشند. فعالیت ضدالتهابی، ضد باکتری، ضد میکروب، ضد ویروس، ضد قارچ، ضد سرطان، ضد تومور، آنتی اکسیدان، محافظت کبدی، تقویت سیستم ایمنی، اثرات محافظت از قلب و هم‌چنین درمان زخم معده برای این گیاه به اثبات رسیده است (Asl and Hosseinzadeh., 2008). با توجه به ترکیبات و اثرات متعددی که از گیاه شیرین بیان گزارش شده است، هدف از این تحقیق بررسی اثرات این گیاه دارویی بر رشد و بیان برخی ژن‌های درگیر در ایمنی غیر اختصاصی ماهی کپور معمولی می‌باشد.

مواد و روش

تهیه ماهی و محل انجام آزمایش

تعداد ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی از مرکز تکثیر و پرورش سیجوال تهیه و با تراکم ۱۰۰ عدد بچه‌ماهی در کیسه‌های پلاستیکی (یک سوم حجم کیسه آب کارگاه و حجم باقی‌مانده اکسیژن تحت فشار) ذخیره‌سازی و به مرکز تحقیقات آبزی-

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال داده شدند. این پژوهش با توجه به دوره پرورش (۱۴روز سازگاری و ۵۶ روز پرورش) انجام شد.

ذخیره‌سازی بچه ماهیان

بچه‌ماهی‌ها پس از انتقال به مرکز تحقیقات به مدت ۲ هفته جهت سازگاری با محیط جدید در مخازن ۲۵۰ لیتری ذخیره شدند و در این مدت با غذای اکسترود کپور معمولی (شرکت فرادانه؛ پروتئین ۴۲٪، چربی ۱۱٪، فیبرخام ۴٪، خاکستر ۱۰٪، فسفر ۱/۲٪) تغذیه شدند. پس از دوره سازگاری، بچه‌ماهی‌ها زیست سنجی شدند و با میانگین وزنی ۰/۰۵±۹/۰۸ گرم و با تراکم ۱۶ عدد در هر مخزن ذخیره‌سازی شدند. به منظور هوادهی محیط پرورشی، در هر یک از مخازن هوادهی ملایمی از طریق سنگ هوای متصل به کمپرسور مرکزی صورت گرفت. شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما، pH، اکسیژن محلول و شوری آب اندازه‌گیری می‌شد و به ترتیب ۲±۲۳ درجه سانتی گراد، ۰/۰۷±۷/۸، ۰/۶۵±۵ و ppt ۰/۱ بود. آب مورد استفاده برای پرورش آب شهری بود که جهت کلرزدایی به مدت ۲۴ ساعت درون مخازن ذخیره هوادهی می‌شد.

نحوه ساخت و آماده‌سازی غذا

در این پژوهش چهار سطح عصاره گیاه شیرین بیان شامل؛ ۰ (تیمار ۱)، ۰/۵ (تیمار ۲)، ۱ (تیمار ۳) و ۲ (تیمار ۴) درصد در جیره غذایی در نظر گرفته شد.

برای آماده‌سازی جیره‌های آزمایش، ابتدا به میزان صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد عصاره، توزین و در آب ولرم حل شدند. سپس عصاره محلول در آب با ۲ درصد پودر ژلاتین مخلوط و بر روی جیره پایه اسپری گردید. این عمل بعد از بهم زدن خوراک چندین بار تکرار شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در هوای اتاق قرار داده شد تا کاملا خشک گردید و تا زمان مصرف در بسته-بندی‌های مناسب در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تغذیه و غذادهی

با توجه به نتایج حاصل از زیست‌سنجی که هر ۱۴ روز یک‌بار انجام می‌گرفت، غذای مورد نیاز برای دوره بعدی محاسبه می-شد. غذادهی به میزان ۳ درصد وزن بدن و ۲ بار در روز انجام گرفت.

نمونه برداری

نمونه‌برداری در شرایط استریل و پس از هشت هفته تغذیه با مکمل‌های غذایی انجام شد. ماهیان قبل از نمونه‌برداری توسط پودر گل میخک با دوز ۲۰۰ppm بی‌هوش شدند و پس از آن سطح بدن با پنبه آغشته به الکل استریل شد و به‌سرعت بافت کبد و روده جمع‌آوری و به داخل ویال‌های از قبل استریل شده انتقال داده شد و بلافاصله ویال‌ها به تانک ازت منتقل شدند. در پایان نمونه‌برداری نمونه‌ها در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و تا زمان استفاده جهت استخراج RNA در آن-جا نگهداری شدند.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

استخراج RNA و سنتزcDNA

در این آزمایش استخراج RNA بر اساس دستورالعمل استخراج RNA توسط ماده هضم‌کننده RNX-Plus انجام شد. همچنین سنتز cDNA با استفاده از مسترمیکس سنتز cDNA شرکت جینت بایو (Genet Bio, Korea) و طبق دستورالعمل آن انجام شد.

انجام Real time PCR

PCR در تیوپ‌های مخصوص آن و در ۴ تکرار تکنیکی برای هر تیمار صورت گرفت که محتویات هر تیوپ ۲۰ میکرولیتر بود. برای ساخت مستر ۱۰ میکرولیتر بافر سایبر گرین، ۰/۲ میکرولیتر آغازگر پیش رونده ژن هدف، ۰/۲ میکرولیتر آغازگر پس‌رونده ژن هدف، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم تگ پلیمراز، ۱ میکرولیتر DMSO و ۶/۴ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز استفاده شد. هر ویال مخصوص PCR، محتوی ۲ میکرولیتر cDNA و ۱۸ میکرولیتر مستر بود.

طراحی پرایمر

جهت مطالعه بیان ژن از پرایمرهای اختصاصی ژن های هدف و رفرنس که بر اساس توالی های موجود در بانک ژن NCBI طراحی شدند استفاده گردید.

جدول ۱. توالی پرایمرهای (IGF, TNF, Lyz) و ژن رفرنس (Beta-Actin)

نام پرایمر	توالی	کارایی پرایمر	شماره دسترسی
Carp IGF F	GGCAGTGGTGTTTTTGTGTC	۹۲٪	KP661168.1
Carp IGF R	CGTAGTCCTTCCCCGTATCA		
Carp TNF F	TGTGTGGTGTCCTGCTGG	۹۲٪	AJ311800
Carp TNF R	TGGAAAGACACCTGGCTGTA		
Carp Lyz F	AGCCGCACACTGAACGCTGTG	۸۹٪	AB027305
Carp Lyz R	AGGCGGTGCACACATAGTTGCC		
Carp Beta F	AGCAGATGTGGATCAGCAAG	۹۱٪	M24113.1
Carp Beta R	TACCTCCCTTTGCCAGTTTC		

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

تجزیه و تحلیل داده‌ها

بیان نسبی ژن‌های IGF ، TNF و Lyz با استفاده از فرمول $^{-\Delta\Delta ct}$ ۲ (ΔΔCt برابر است با ΔCt ژن هدف منهای ΔCt کالیبراتور) توسط نرم افزار اکسل انجام شد (Miandare *et al*., 2016). هم‌چنین تجزیه و تحلیل داده‌ها و مشخص کردن سطوح معنی-داری با استفاده از نرم افزار Spss۲۲ و همچنین آزمون آماری دانکن با درصد اطمینان ۹۵ و با آنالیز واریانس یک‌طرفه (One - Way ANOVA) انجام شد.

نتایج

نتایج به‌دست آمده از ارزیابی فاکتورهای رشد نشان داد که با افزایش سطح مصرف عصاره شیرین بیان در جیره ماهی کپور میزان فاکتورهای وزن نهایی، افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین مقدار در ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد عصاره بود که اختلاف معنی‌داری با شاهد و دیگر تیمارها داشت ($P < ۰/۰۵$). همچنین کمترین مقدار ضریب تبدیل غذایی نیز در سطح معنی داری با سایر تیمارها و گروه شاهد در تیمار ۲ درصد بود ($P < ۰/۰۵$). میزان بقا در همه گروه‌ها یکسان مشاهده شد.

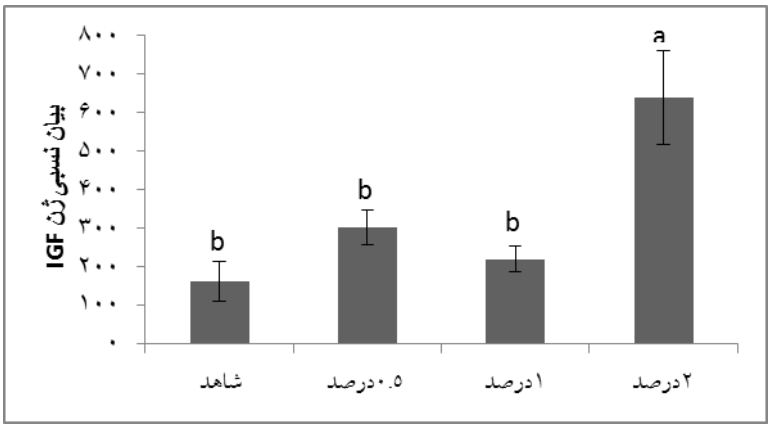
جدول ۲. نتایج حاصل از ارزیابی فاکتورهای رشد تحت تاثیر استفاده از سطوح مختلف عصاره شیرین بیان

شاخص‌های رشد	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
میانگین وزن اولیه (گرم)	۹/۰۹±۰/۰۷^{a}	۹/۰۷±۰/۰۱^{a}	۹/۰۶±۰/۰۸^{a}	۹/۱۰±۰/۰۴^{a}
میانگین وزن نهایی (گرم)	۱۵/۹۸±۰/۱۴^{d}	۱۶/۷۳۸±۰/۰۸^{c}	۱۷/۴۵±۰/۱۴^{b}	۱۸/۳۳±۰/۲۰^{a}
میانگین طول اولیه (سانتی‌متر)	۸/۶۴±۰/۱۴^{a}	۸/۷۳±۰/۰۷^{a}	۸/۶۶±۰/۰۱^{a}	۸/۶۸±۰/۰۷^{a}
میانگین طول نهایی (سانتی‌متر)	۱۰/۳۴±۰/۳۱^{a}	۱۰/۵۶±۰/۲۰^{a}	۱۰/۶۰±۰/۱۴^{a}	۱۰/۷۵±۰/۲۰^{a}
افزایش وزن بدن (گرم)	۶/۸۸±۰/۱۱^{d}	۷/۶۳±۰/۱۵^{c}	۸/۳۷±۰/۱۳^{b}	۹/۲۷±۰/۲۷^{a}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۱/۰۰±۰/۰۱^{d}	۱/۰۸±۰/۰۲^{c}	۱/۱۶±۰/۰۱^{b}	۱/۲۵±۰/۰۳^{a}
شاخص وضعیت	۱/۴۲±۰/۰۸^{a}	۱/۴۴±۰/۱۱^{a}	۱/۴۶±۰/۰۵^{a}	۱/۴۷±۰/۰۷^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۲/۸۶±۰/۰۷^{a}	۲/۶۰±۰/۰۱^{b}	۲/۴۱±۰/۰۲^{c}	۲/۱۸±۰/۰۶^{d}
نرخ بقا (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

مقادیر نسبی بیان ژن IGF در کبد بچه ماهی کپور معمولی

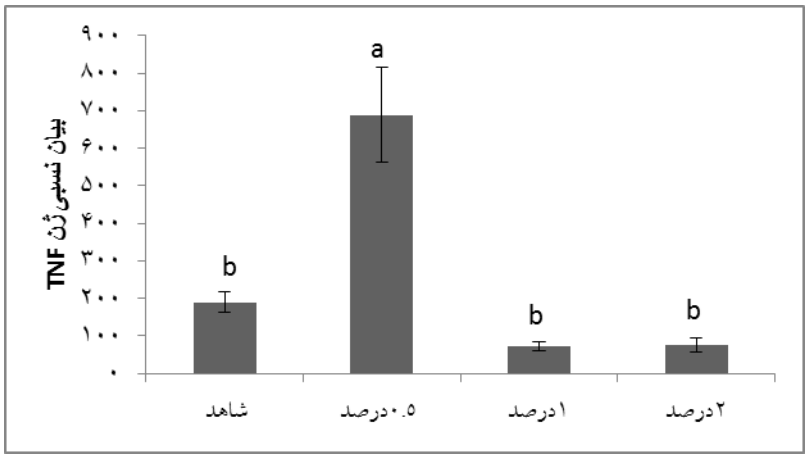
در این تحقیق بیان ژن IGF ارزیابی شد و نتایج حاصل نشان داد که در پایان دوره هشت هفته‌ای تغذیه ماهی‌ها با جیره حاوی عصاره بیان ژن IGF دارای یک الگوی افزایشی بود به‌طوری‌که گروه شاهد کمترین سطح بیان ژن و گروه تغذیه شده با سطح ۲ درصد بیشترین سطح بیان ژن را داشت و دارای اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۵$).



شکل ۱. بیان نسبی ژن IGF تحت تاثیر استفاده از سطوح مختلف عصاره شیرین بیان در ماهی کپور معمولی

نتایج حاصل از ارزیابی بیان ژن TNF

نتایج حاصل از ارزیابی ژن TNF نشان داد که پس از ۸ هفته تغذیه ماهیان با عصاره شیرین بیان بیشترین سطح بیان در تیمار تغذیه شده با ۰/۵ درصد بود که اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها ($P < ۰/۰۵$). داشت ولی بین سایر تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P >۰/۰۵$).

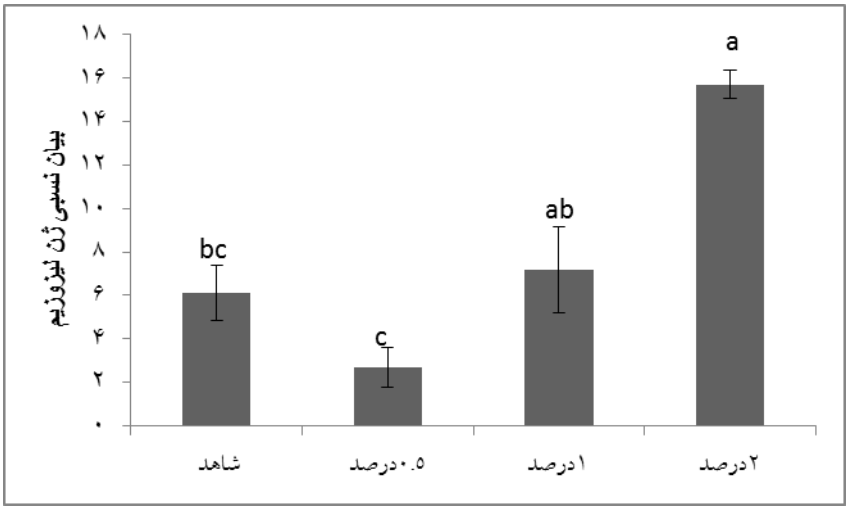


شکل ۲. بیان نسبی ژن TNF تحت تاثیر استفاده از سطوح مختلف عصاره شیرین بیان در ماهی کپور معمولی

نتایج حاصل از ارزیابی بیان ژن لیزوزیم

این تحقیق نشان داد که در پایان دوره هشت هفته ای تغذیه با جیره حاوی عصاره شیرین بیان، بیان ژن مذکور در تیمار تغذیه شده با ۲ درصد دارای بالاترین سطح بیان بود و اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P < ۰/۰۵$).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]



شکل ۳. بیان ژن لیزوزیم تحت تاثیر استفاده از سطوح مختلف عصاره شیرین بیان در ماهی کپور معمولی

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق مشخص شد که استفاده از عصاره گیاه شیرین بیان باعث افزایش میزان رشد و بیان نسبی ژن IGF بچه ماهی کپور معمولی شد. دلیل این افزایش می‌تواند افزایش مصرف خوراک ناشی از افزایش اشتها به‌دلیل تحریکات حسی ناشی از حضور MELRs در جیره غذایی و افزایش جذب مواد مغذی و بهبود مصرف غذا باشد که در واقع موجب رشد بهتر می‌شود (Amani *et al*., 2015). همچنین Raj kumar و Sharma (2007) نیز گزارش کردند که در این گیاه یکسری ترکیباتی وجود دارد که ممکن است باعث فعال شدن غده تیروئید و هورمون‌های محرک رشد شده که در نتیجه‌ی آن رشد ماهی افزایش می‌یابد. به‌طورکلی، اثر افزایش‌دهندگی رشد با عصاره‌های گیاهی مورد استفاده به‌عنوان مواد افزودنی خوراک بستگی به غلظت مناسب، ترکیب رژیم غذایی، مدیریت پرورش و مدت زمان پرورش با جیره حاوی عصاره دارد. Johnson و Banerji (2007) گزارش کردند که رشد در ماهی *Lobeo rohito* تغذیه شده با مکمل گیاهی به‌دلیل بهبود مصرف غذا و سنتز پروتئین افزایش می‌یابد. IGF و GH نقش مهمی در تنظیم تعادل رشد در همه مهره داران دارند. بر اساس گزارش Duan و Plisetskaya (1993) سطوح mRNA IGF-I کبدی در بسیاری از گونه‌های استخوانی به وضعیت تغذیه‌ای بستگی دارد. اساساً تولید هورمون رشد در هیپوفیز و ترشح درون ریز آن، طیف وسیعی از فرایندهای مربوط به تقسیمات سلولی را تحریک می‌نماید که این عملکرد آن‌ها به واسطه فاکتورهای رشد شبه انسولینی (IGF) صورت می‌گیرد (Nelson and Kraak, 2010) بنابراین، تولید IGF-I وابسته به تولید GH و رهاسازی آن است که در نهایت، از طریق محور مغزی- هیپوتالاموسی و وضعیت تغذیه‌ای (مصرف غذا و جذب مواد مغذی) تحت کنترل قرار می‌گیرد. سیستم دفاعی دارای اهمیت بسزایی در حفظ سلامت گونه آبزی و جلوگیری از شیوع بیماری در بین جمعیت ماهیان پرورشی دارد که این مسئله از زیان‌های اقتصادی ناشی از بروز بیماری و تلفات جلوگیری می‌کند. فاکتور نکروز کننده تومور یک پروتئین سلولی سیگنالینگ (سیتوکین) درگیر در التهاب سیستمیک است و یکی از سایتوکین‌هایی است که واکنش فاز حاد را تشکیل می‌دهند. مطالعات فراوانی بر روی این پروتئین و ژن کد کننده آن در انسان انجام شده است که نتایج حاصل نشان می‌دهد به‌طور عمده توسط ماکروفاژهای فعال‌شده تولید می‌شود،

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

هرچند که می‌تواند توسط بسیاری از انواع سلول‌های دیگر مانند لنفوسیت‌ها، سلول‌های NK، نوتروفیل، ماست سل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و سلول‌های عصبی تولید شود (Song *et al*., 2014) مولکول‌های سیستم سیتوکین توانایی تحریک پاسخ‌های ایمنی را دارا می‌باشند، به‌طور مثال TNF-a بیشتر نقش پروتئین‌های واسطه را در سلول‌های ایمنی بازی می‌کند و سلول‌های ایمنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Gruss, 1996). در این مطالعه مشخص گردید که با افزایش سطح مصرف عصاره شیرین بیان در جیره میزان بیان نسبی ژن TNF از الگوی ثابتی پیروی نکرد و بالاترین میزان بیان در تیمار تغذیه شده با ۰/۵ درصد عصاره مشاهده شد. Chantao و همکاران (2008) با استفاده از سه سطح ۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پلی‌ساکاریدهای استراگالوس در جیره کپور معمولی گزارش کردند که بیان نسبی ژن TNF در بافت کلیه در تیمار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت معناداری کاهش یافت در صورتی که سایر تیمارها اختلاف معناداری با گروه شاهد نداشتند همچنین در بافت آبشش و طحال بیان این ژن در تیمار ۵۰ میلی‌گرم اختلاف معناداری با سایر گروه‌ها داشت همچنین اظهار داشتند که بیان ژن TNF وابسته به دوز می‌باشد که سطوح بالای APS باعث تحریک بیان TNF می‌شود درحالی‌که سطوح پایین نتایجی عکس را نشان داد اگرچه مطالعات بیشتری باید انجام شود تا مشخص شود که آیا بیان ژن TNF وابسته به دوز هست یا نه. در این تحقیق مشخص شد سطوح پایین این عصاره برای افزایش این ژن مفید می‌باشد. لیزوزیم یکی از اجزای مهم ایمنی غیر اختصاصی ماهی است که باعث تخریب جداره باکتری‌ها، فعال سازی کمپلمان و افزایش فعالیت بیگانه خواری، به عنوان اپسونین (تسهیل کننده بیگانه خواری)، در ماهی می‌گردد (Sakai, 1998). نتایج این تحقیق نشان داد که بیان نسبی ژن لیزوزیم تحت تاثیر شیرین بیان افزایش یافت. در ارتباط با اندازه‌گیری میزان فعالیت لیزوزیم در سرم و موکوس ماهی مطالعات متعددی انجام شده است که حاکی از تاثیر مثبت استفاده از عصاره‌های گیاهی می‌باشند این افزایش را می‌توان به قدرت تحریک‌پذیری مواد موثره موجود در عصاره گیاه نسبت داد، که باعث افزایش سطح لیزوزیم شده است. Yin و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که استفاده از استراگالوس رادیکس باعث افزایش بیان ژن لیزوزیم ماهی تیلاپیا شد. Anwei و همکاران (2008) با استخراج پلی-ساکاریدهای گیاه شیرین بیان کردند که این پلی‌ساکاریدها دارای خاصیت‌های دارویی هستند و همچنین قادر به تحریک سیستم ایمنی غیر اختصاصی هستند که منجر به افزایش عملکرد ماکروفاژها می‌شود. در برخی مطالعات انجام شده بیان ژن-های لیزوزیم، TNF، IL1 و IL8 در ماهیان کپور تغذیه شده با عصاره خرما Hoseinifar و همکاران (2016) و گیاه آنغوزه Safari و همکاران (2016) افزایش یافت. در مطالعه Beltran و همکاران (2017) با استفاده از اضافه نمودن پودر پوست لیمو به جیره ماهی شانک (*Sparus aurata*) اثرات آن را بر عملکرد ایمنی بین تیمارهای آزمایشی در یک دوره ۳۰ روزه بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که در ماهیان تغذیه شده با پودر پوست لیمو در مدت ۱۵ روز اول بیان برخی ژن‌های مرتبط با ایمنی (csf1، igth، il1 و nkefa) افزایش یافت. استفاده از محرک‌های ایمنی خصوصا انواع طبیعی و بیولوژیک آن‌ها جهت بالا بردن توان و مقاومت آبزیان در برابر عوامل بیماری‌زا و افزایش رشد و بقا امری ضروری و لازم به‌نظر می‌رسد. از این مطالعه می‌توان چنین استنباط کرد که گیاه شیرین بیان به‌عنوان یک محرک طبیعی توانست سبب افزایش رشد و ارتقا سیستم ایمنی در ماهی کپور معمولی شود.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

منابع

Abu-Elala, N., Marzouk, M. and Moustafa, M. 2013. Use of different Saccharomyces cerevisiae biotic forms as immune-modulator and growth promoter for (*Oreochromis niloticus*) challenged with some fish pathogens, International Journal of Veterinary Science and Medicine. 1: 21-29.

Amani, M., Sotudeh-Gharebagh, R., Mostaoufi, N., Kashani, H. 2005. Optimal Exteraction of Glycyrrhetinic Acid From Licorice Root. Journal of Food Technology. 3: 376-580.

Amani, M.D. El Mesallamy., Hany, I. El-Marakby., Ahmed, M.A. Souleman., Fatma S. Abd El-Naby. 2015. Evaluation of phenolic extract of licorice roots in diets of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Egyptian Pharmaceutical Journal. 14: 117–122.

Anwei, C.H., Fachun, W., Jiaqi, W., Zhengyu, J., Xueming, Xu. 2008. Macrophage immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Glycyrrhiza uralensis* fish. International Immunopharmacology. 8: 43-50.

Asl, M.N. and Hosseinzadeh, H. 2008. Review of pharmacological effects of GlycyrihI za sp. and its bioactive compounds. Phytother Research. 22: 709-724.

Bahi, A., Guardiola, F.A., Messina, C., Mahdhi, A. Cerezuela, R., Santulli, A., Bakhrouf, A. and Esteban, M.A. 2017. Effects of dietary administration of fenugreek seeds, alone or in combination with probiotics, on growth performance parameters, humoral immune response and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Fish and Shellfish. 60: 50-58.

Beltran, J.M.G., Espinosa, C., Guardiola, F.A. and Esteban, M.A. 2017. Dietary dehydrated lemon peel improves the immune but not the (*Sparus aurata* L). Fsh and shellfish Immnology., 64: 429-436.

Cerezuela, Meseguer, J. and Esteban, M.A, 2011. Current Knowledge in Synbiotic Use for Fish Aquaculture: A Revie. Aquaculture. pp: 1-7.

Chuntao, Y., Xuping, P., Yi, G., Aijun, X., Guanghong, W., Jianqing, T., Xiaodong, H. 2008 Effects of Astragalus polysaccharides (APS) on the expression of immune response genes in head kidney, gill and spleen of the common carp (*Cyprinus carpio*). International Immunopharmacology. 8: 51–58.

Chobkar, N. 2015. Effect of using Falcaria vulgaris on skin wound healing and immune response of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Endocrinology and Veterinary Clinic. 9:1-9.

Duan, C., and Plisetskaya, E. M. 1993. Nutritional regulation of insulin-like growth factor-I mRNA expression in salmon tissues. Journal of Endocrinology. 139: 243-252.

Elabd, H., Wang, H.P., Shaheen, A., Yao H.,Abbass, A. 2016. Feeding(Glycyrrhiza glabra) (liquorice) and(Astragalus membranaceus) (AM) alters innate immune andphysiological responses in yellow perch (*Perca flavescens*). Fish and Shellfish Immunology. 54: 374-384.

Guardiola, F.A., Porcino, C., Cerezuela, R., Cuesta, A., Faggio, C., Esteban, M.A. 2016. Impact of date palm fruits extracts and probiotic, enriched diet on antioxidant status,innate immune response, and immune-related gene expression of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Fish and Shellfish Immunology. 52: 298-308.

Gruss, H. J. 1996. Molecular, structural, and biological characteristics of the tumor necrosis factor ligand superfamily. International Journal of Clinical and Laboratory Research. 26: 143-159

Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S. 2011. Diet enriched with mushroom Phellinus linteus extract enhances the growth, innate immune response, and disease resistance of kelp grouper,(*Epinephelus bruneus*) against vibriosis. Fish and Shellfish Immunology. 30: 128-134.

Hoseinifar, S H, Khalili, M, Rufchaei, R, Raeisi, M. 2016. Investigating the effects of date palm extract on growth performance and mucus immune parameters in Common Carp *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 fingerlings. Journal of Academia and Industrial Research. 3: 89-100.

Johnson, C. and Banerji, A. 2007. Infuence of extract isolated from the plant Sesuvium portulacastration on growth and metabolism fresh waater teleost (*Labeo rohita*). Fishery Technolojy. 44: 229-234.

Magnadottir, B. 2010. Immunological control of Fish Disease. Marine biotechnology. 12: 361- 379.

Miandare, H.K., Farvardin, S.h., Shabani, A., Hoseinifar, S.H. 2016. The effects of galactooligosaccharide on systemic and mucosal immune response, growth performance and appetite related gene transcript in goldfish, *Carassius auratus* gibelio. Fish and Shellfish Immunol.55:479-483.

Nelson, S.N., Van, Der., Kraak, G. 2010. Characterization and regulation of the insulin-like growth factor (IGF) system in the zebrafish (*Danio rerio*) ovary. Gen Comp Endocrinol. 168: 111-20.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

Pourgholam, R., Sharif Rohani, M., Safari, R., Saeeidi, A., Binaeei M., Najafeyan R. 2013. Effect of Echinacea purpurea extract on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and its resistance to Streptococcusis. Journals & Diaries - Personality Café. 22 : 1-12.

Raj kumar, B.K. and Sharma, L.L. 2007. Impact of Glycyrrhiza glabra linn. as growth promotor in th supplementary feed of an indian major carp cirrhinus mrigala (HAM.). Indian Journal Animal Research. 41: 35-38.

Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B. and Sasal, P. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future Perspectives. Aquaculture. 433: 50–61.

Safari R., Hoseinifar S.H., Nezhadmoghadam, SH. and Jafar Node, A. 2016. Transciptomic study of mucosal immune, antioxidant and growth related genes and nonspecific immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed dietary Ferula (Ferula assafoetida). Fish and Shellfish Immunology. pp: 1-16.

Sakai, M. 1998. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture. 172: 63-92. Song, S. K., Beck, B. R., Kim, D., Park, J., Kim, J., Kim, H. D., and Ringo, E. 2014. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: a review. Fish & shellfish immunology. 40:40-48.

Taplur, A.D., Ikhwanuddin, M. 2012. Dietary effects of garlic(Allium sativum) on haemato-immunological parameters, survival, growth and disease resistance against Vibrio harveyi infection in Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch). Aquaculture. 27: 364-356.

Yin, G., Jeney, G., Racz, T., Xu, P., Jun, X. and Jeney, Z., 2006. Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture. 253:.39-47.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

Journal of Aquatic Ecology
Volume14, Issue 2, Autumn 2023
Pages:97-107

Journal of Aquatic Ecology

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

University Of Hormozgan

The effect of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) extract on IGF, TNF and lyzozyme genes expression in Cyprinus carpio fingerlings

Valiollah Jafari*, Hamed Paknejada, Marjan Hosseinia

Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Abstract

The study aimed to assess the impact of *Glycyrrhiza glabra* extract on IGF, TNF, and lysozyme gene expression in *Cyprinus carpio*. Fish, averaging 9.08±0.05 grams, were distributed across 12 tanks and subjected to three levels of *G. glabra* extract (0, 0.5, 1, and 2 %) over a 56-day feeding period. Results at the study's conclusion revealed that *G. glabra* extract notably enhanced growth factors, including final weight (FW), weight gain (WG), and specific growth rate (SGR). The most significant growth was evident in fish fed 2% of the extract, displaying substantial differences compared to both the control and other treatments ($P<0.05$). Treatment with 2% also demonstrated the lowest Feed Conversion Ratio (FCR), indicating efficient feed utilization. Regarding gene expression, the study found an upregulation of the IGF gene in fish treated with 2% of *G. glabra* extract compared to the control group. TNF gene expression showed its highest levels in fish fed 0.55 of the extract, while lysozyme gene expression exhibited notable differences specifically in the 2% treatment. Overall, the findings suggest that *G. glabra* extract positively influences growth by enhancing IGF gene expression and supporting the immune system in *C. carpio*.

ARTICLE TYPE
Research

Received: 10 July 2019
Accepted: 19 October 2023
ePublished: 17 December 2023

* Corresponding Author:
V.jafari.sh110@gmail.com

Keywords: *Glycyrrhiza glabra*, gene expression, IGF, TNF and lyzozyme

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]