تاثیر عصاره گیاه درمنه دشتی بر سیستم ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان در مواجه با عفونت باکتری استرپتوکوکوس اینیایی

مینا ربیعی*

چکیده

امروزه صنعت آبزی پروری یکی از منابع مهم تأمین پروتئین در جهان محسوب می شود . عفونتهای باکتریایی از مهمترین عوامل تهدید کننده این صنعت می باشد.استفاده از انتی بیوتیک‌ها به واسطه ایجاد مقاومت دادرویی ، پسمان دارو در لاشه و به هم خوردن تعادل میکروفلور طبیعی روده مناسب نیست، لذا یافتن جایگزین‌های مناسب ضروری است..یکی از مهم ترین بیماری های عفونی شایع در اکثر مزارع پرورش قزل آلای رنگین کمان در سال های اخیر در بسیاری از کشورهای دنیا استرپتوکوکوزیس[1] می‌باشد. در سال‌های اخیر، گیاهان آروماتیک و عصاره آن‌ها توجه بسیاری را به خود جلب کرده‌اند هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عفونت باکتریایی ناشی از سویه استرپتوکوکوس اینیایی بر سیستم ایمنی ماهی‌ها و استفاده از عصاره گیاه درمنه دشتی در کاهش اثر سوء این عفونت باکتریایی بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان است. کاهش سطح پراکسیداز پلاسما، IgM ، کمپلمان تام، لیزوزیم در ماهی‌هایی که در معرض باکتری قرار داشته‌اند به خوبی نشان دهنده تاثیر سم آن بر سیستم ایمنی ماهی‌ها است. حال آنکه در ماهی‌هایی که با عصاره‌ی گیاه درمنه دشتی تغذیه شده و در مواجه با عفونت باکتریایی قرار گرفته‌اند، تغییر معنی‌داری ($p < 0.05$) در مقایسه با ماهی‌های گروه کنترل مشاهده نگردید، که این امر نشان دهنده تاثیر تقویتی و حفاظتی عصاره ی گیاه درمنه دشتی بر سیستم ایمنی ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان است.

واژه‌های کلیدی: درمنه دشتی، استرپتوکوکوس اینیایی، قزل‌آلای رنگین کمان، سیستم ایمنی

---

* دانشیار دانشگاه پیام نور، گروه منابع طبیعی و محیط زیست، تهران، minarabie@ pnu.ac.ir

1- Streptococosis

مقدمه

رشد اقتصادی و صنعتی و همچنین لزوم تغذیه جمعیت رو به افزایش و کیفیت برتر پروتئین آبزیان در مقایسه با سایر گوشت ها، موجب افزایش توجه به آبزیان و صید از دریاها و منابع آبی شده که درنتیجه کاهش ذخایر آبزیان را به دنبال داشته است. برای دستیابی به برابری تولید آبزیان با تقاضای مصرف آن ها پرورش آبزیان در محیط های قابل کنترل و همچنین تکثیر انواع ماهیان به منظور رهاسازی و بازسازی ذخایر گزینه مناسبی می باشد. در این خصوص پرورش ماهیان سردابی و بویژه قزل آلای رنگین کمان (Oncorhynchusmykiss) از جایگاه خاصی برخوردار بوده و در سال های اخیر در کشور ما توجه فراوانی به آن شده و بخش اصلی آبزی پروری را به خود اختصاص داده است. به طوری‌که در سال ۱۳۸۸ میزان تولید آن بالغ بر ۷۲ هزار تن بوده و ایران رتبه اول تولید قزل آلای رنگین کمان در آب های شیرین را در جهان داشته است (FAO ،2008).گسترش روز افزون صنعت آبزی پروری و توسعه سیستم‌های پرورشی متراکم در ایران و توجه به آبزیان به عنوان یک منبع غنی از پروتئین از یک سو و شیوع و ظهور بیماری های اپیدمیک در عرصه آبزی پروری جهانی از سوی دیگر، شناسایی عوامل بیماری زا بویژه باکتری ها و روش های پیشگیری و مبارزه با آن ها را امری ضروری و اجتناب ناپذیر ساخته است.

سیستم ایمنی جانوران آبزی، نظیر ماهی‌ها بطور پیوسته تحت تاثیر تغییرات دوره‌ای و ناخواسته محیطی قرار دارد و هرگونه تغییر ناخواسته محیطی می‌تواند بصورت استرس حاد یا مزمن سلامت جانور را به مخاطره اندازد. عفونت های باکتریایی می‌تواند بر روی سیستم ایمنی ماهیان اثرگذار باشد. یکی از مهم ترین بیماری های عفونی شایع در اکثر مزارع پرورش قزل آلای رنگین کمان در سال های اخیر در بسیاری از کشورهای دنیا استرپتوکوکوزیس[1] می باشد (Austin و Austin، ۲۰۰۷). مطالعات متعددی در خصوص بیماریزایی، شناسایی و جدا سازی بیماری از مزارع تکثیر و پرورش قزل آلای کشور انجام گرفته است که از آن جمله می توان به مطالعات اخلاقی و کشاورز (۱۳۸۱)، سلطانی و نیکبخت (۱۳۸٦)، Soltani و همکاران (۲۰۰۵)، Soltaniو همکاران (۲۰۰۸) اشاره نمود. حاصل این مطالعات بیانگر گسترش بیماری در مزارع قزل آلای کشور بوده و تا کنون موجب خسارات زیادی بر این صنعت گردیده است. به علاوه در این مطالعات گونه عمده درگیر در بروز استرپتوکوکوزیس در مزارع قزل آلای ایران استرپتوکوکوساینیایی[2] (Soltani و همکاران، ۲۰۰۵) و لاکتوکوکوسگارویه[3] (Soltani و همکاران، ۲۰۰۸) معرفی شده است. آنتی

[1]Streptococosis
[2]Streptococcus iniaie
[3]Lactococcusgarvieae

بیوتیک های مختلفی برای درمان بیماری های باکتریایی استفاده می شود که از آن جمله می توان به اکسی تترا سایکلین[1] و اریترومایسین[2] اشاره کرد، که به دلیل مصرف بی رویه زمینه ساز ایجاد مقاومت های باکتریایی، تزلزل امنیت غذایی و بهداشت عمومی و ناپایداری صادرات محصولات پرورشی می باشد. هم چنین کاربرد داروها و مواد شیمیایی خارج از سیستم صحیح تشخیص و تجویز رسمی بدون در نظر گرفتن باقی مانده های دارویی و اثرات آلایندگی آن‌ها در طبیعت موجب عوارض سوء روی انسان و سایر اجزای اکوسیستم آب و خاک می گردد.

تقویت سیستم ایمنی ماهی‌ها از طریق افزودن مکمل‌های غذایی می‌تواند راه حل مناسبی برای پیشگیری از بروز ضعف در سیستم ایمنی آنها گردد. ترکیب بسیاری از عصاره‌های گیاهی قادر به از بین بردن انواع ترکیبات فعال اکسیژن دار (ROS) می باشند و به موجب آن می‌توانند بطور مستقیم از اثرات استرس اکسایشی بکاهند. این ترکیبات همچنین می توانند بطور غیر مستقیم و از طریق فعال نمودن سیستم دفاع آنتی اکسیدانی نقش حفاظتی خود را اعمال نمایند.

استفاده از گیاهان دارویی به عنوان ترکیبات ضد قارچ (۱) و ضد باکتری (۲٦) و همچنین به عنوان ترکیبات محرک سیستم ایمنی (۱۱)، در افزایش توان سیستم ایمنی ماهیان از دیرباز مرسوم بوده است.

درمنه دشتی با نام علمی Artemisia SieberiBesser از خانواده‌ی Compositae تیره Radiae می‌باشد. درمنه گیاهی بوته‌ای به رنگ سبز متمایل به خاکستری و دارای ریشه عمودی ضخیم و ساقه‌های گلدار به ارتفاع ۳۰CM تا ٤۰ می‌باشد. جنس درمنه دارای بیش از ٤۰۰ گونه در سطح جهان و ۳٤ گونه در ایران می‌باشد. موطن اصلی آن آسیا بوده و از این قاره به اروپا و آمریکا برده شده است. درمنه یکی از گیاهان با ارزش مناطق بیابانی ایران است که پراکندگی جغرافیایی آن در برگیرنده سراسر ایران به جز نواحی غربی است (۳٤). Lopes-Lutz و همکاران در سال ۲۰۰۸ مهم‌ترین ترکیبات موجود در گیاه درمنه را سابینن، بتاتیوجن، میرسن و کامفور بیان کردند و اسانس این گیاه را به سه گروه شیمیایی اصلی تقسیم کردند؛ اسانس غنی از تیوجن، اسانس غنی از سابینن و اسانس غنی از اپوکسی سیمن (۲۰). Yousefi و همکاران در سال ۲۰۰۵، نشان دادند فعالیت ضدمیکروبی اسانس Artemisihausskenechti از آنتی بیوتیک‌های مانند نالیدیکسیک اسید، جنتامایسین، سفالونین، آموکسی سیلین بیشتر است (۳۳). ترکیبان اصلی اسانس این گیاه سینئول، کامفور، آرتمیزین و بورنئول می‌باشد. Royo و همکاران در سال ۱۹۹۹، با انجام

[1]Oxytetracycline
[2]Erythromycine

تحقیقات روی اسانس گیاهArtemisia Sieberi خواص ضدمیکروبی آن را به وجود ترکیباتی مانند کامفور، آلفاتیوجن، سینئول، میرسینبورنئول، سیمن نسبت دادند (۲۷).

بتا کاریوفیلن یکی از سسکوئیترپنها است که توسط آنزیم بتا کاریوفیلن سنتاز از پیش ماده فارنسیل دی فسفات به وجود میآید. این ترکیب و مشتقات آن دارای خاصیت ضد التهاب، ضد سرطان، بیحس کننده موضعی، بازدارنده زخم های مخاط معده، ضد باکتری و آنتی آکسیدان میباشد، همچنین میتواند در سیستم دفاعی گیاه نقش داشته باشد (Kubo et al, 1996; Wadhams et al. 1999; Legault and Pichette 2007).

لینالول و پنین جزء منوترپنهای میباشند که توسط آنزیم لینالول سنتاز و پنین سنتاز از پیش ماده گرانیل دی فسفات به وجود می آیند این دو ترکیب دارای خاصیت آرام بخش، ضد میکروب، آنتی اکسیدان، ضد ویروس برونشیت و القاکننده آپوپتوز میباشد(Legault and Pichette 2007).

مواد و روش‌ها

۲۴۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان کاملا سالم از نظر ظاهری (۱۵±۱۰۰ گرمی) از یک مزرعه خصوصی خریداری و به آزمایشگاه تکثیر و پرورش ماهی انتقال داده شدند. ماهی-های به طور تصادفی در ۱۲ مخزن ۱۰۰۰ لیتری مجهز به هواده با طراحی سیستم نیمه‌مدار بسته با ۱۰٪ تعویض آب در روز توزیع و به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند تا کاملا به شرایط آزمایشگاهی سازگار شوند. ماهی‌ها در طی این مدت با جیره غذایی تجاری تغذیه گردیدند.

درمنه های دشتی از منطقه اردستان و ارتفاعات ۱۶۰۰ تا ۱۷۰۰ متری در دوران اواخر گلدهی جمع آوری با کد هرباریوم ۸۵۸۲۲جمع آوری شد. جهت تهیه عصاره از برگ های گیاه استفاده شد که به روش هیدروالکلی توسط دستگاه سوکسله و حلال از طریق تقطیر در خلاء بخار، عصاره تهیه گردید.

استوک خالص باکتری استرپتوکوکوساینیاییاز گروه بهداشت و بیماریهایآبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید که از تلفات ماهیان قزل آلای مزارع کشور جداسازی و شناسایی شده بود (Soltani و همکاران، ۲۰۰۵). تجدید کشت باکتری برای نگهداری از نمونه های خالص سازیشده نیز هفته ایک بار انجام می گردید. برای تهیه سوسپانسیون باکتری استرپتوکوکوساینیایی به میزان لازم از پرگنه-های باکتری روی محیطTSA حاوی ژلوزخوندار برداشته و به داخل یک لوله آزمایش محتوی بافرنمکی فسفات (PBS) (۷/۲ گرم Nacl، ۱/۴۸ گرم Na_2HPo_4، ۰/۴۳ گرم KH_2Po_4 در ۱ لیتر آب مقطر) منتقل و توسط شیکر یکنواخت گردید. سپس غلظت باکتری ها با محلول مک فارلند[1] ۱ (۰/۱ میلی لیتر $BaCl_2$

[1]Mac FarlandNephelometery Standards

1% ، ۹/۹ میلی لیتر H_2So_4 1%) تنظیم گردید تا تعداد $۳×۱۰^۸$ سلول در میلی لیتر باکتری در سوسپانسیون مورد نظر موجود باشد.محیط کشت اختصاصی باکتری استرپتوکوکوس اینیایی ژلوز خوندار (Blood Agar) می باشد (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۷)؛ که برای تهیه آن مراحل زیر طی شد. ابتدا محیط کشت تریپتیک سویا آگار (TSA) به میزان ٤٠ گرم در ۱ لیتر آب مقطر استریل حل شده و در دمای ^oc ۱۲۱/۵ به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد. پس از اتوکلاو در دمای اتاق قرار گرفته تا سرد شده و دمای آن به ٤٥^oc رسید.تهیه غذا بصورت تازه و بطور هفتگی و با افزودن عصاره ی درمنه دشتی به نسب ٤٠٠ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم غذا با پودر غذای تجاری و تهیه مجدد پلت غذایی انجام گردید. پس از آغاز آزمایش، بطور تصادفی از هر مخزن ۳ ماهی و در مجموع از هر تیمار ۹ ماهی در روزهای ۷، ١٤ و ۲۸ صید و پس از بیهوش کردن با عصاره پودر گل میخک (۱:۵۰۰۰) از ساقه دمی آنها با استفاده از سرنگ آغشته به EDTA خون‌گیری گردید. پلاسما پس از سانتریفیوژ نمونه‌های خون در دستگاه سانتریفیوژ با قدرت ٦٠٠٠g دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی-گراد جداسازی و تا زمان انجام آزمایش‌های نهایی در فریز ۷۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

در سنجش سطح فعالیت پراکسیداز پلاسما، ۱۵ میکرولیتر پلاسما با ۳۵ میکرولیتر بافر HBSS عاری از منیزیوم و کلسیم رقیق شد. سپس به آن ۵۰ میکرولیتر محلول (TMB) و ۵ میلی مول آب‌اکسیژنه افزوده شد تا محلول به رنگ آبی درآید، سپس پس از گذشته ۲ دقیقه، با افزودن ۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۲ مولار واکنش رنگی متوقف گردید و رنگ محلول به زرد روشن تبدیل شد. در مرحله بعد میزان جذب نوری در طول موج ٤٥٠ نانومتر سنجیده می‌شود و پس از محاسبه با جذب نوری محلول استاندارد نتیجه برحسب واحد بین-المللی در میلی‌لیتر بیان می‌شود.سنجش کمپلمان تام CH_{50} با استفاده از کیت تهیه شده از شرکت بهار افشان تهران و براساس روش ایمنودیفیوژن شعاعی اندازه‌گیری گردید.سطح فعالیت لیزوزیم نیز با استفاده از روش کدورت سنجی و با استفاده از سوسپانسون *Micrococcus lysodeikticus* و آنزیم مورآمیداز صورت گرفت. میزان کدورت نیز در طول موج ٦٧٠ سنجش می‌شود. سطح ایمنوگلبولین IgM پلاسما نیز با استفاده از کیت سنجش IgM و اتوآنالیزرهیتاچی سنجش گردید.

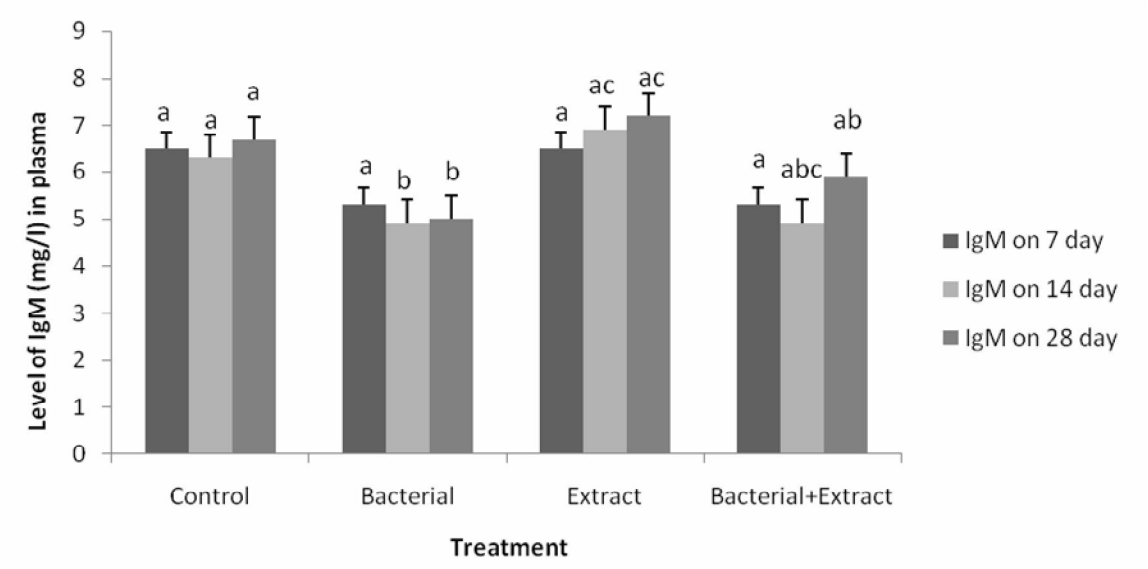
تجزیه و تحلیل آماری

داده ها به روش آنالیز واریانس یکطرفه تجزیه و تحلیل نموده و با آزمون توکی میانگین

نتایج با یکدیگر در سطح اطمینان ($P < 0.05$) مقایسه شدند.

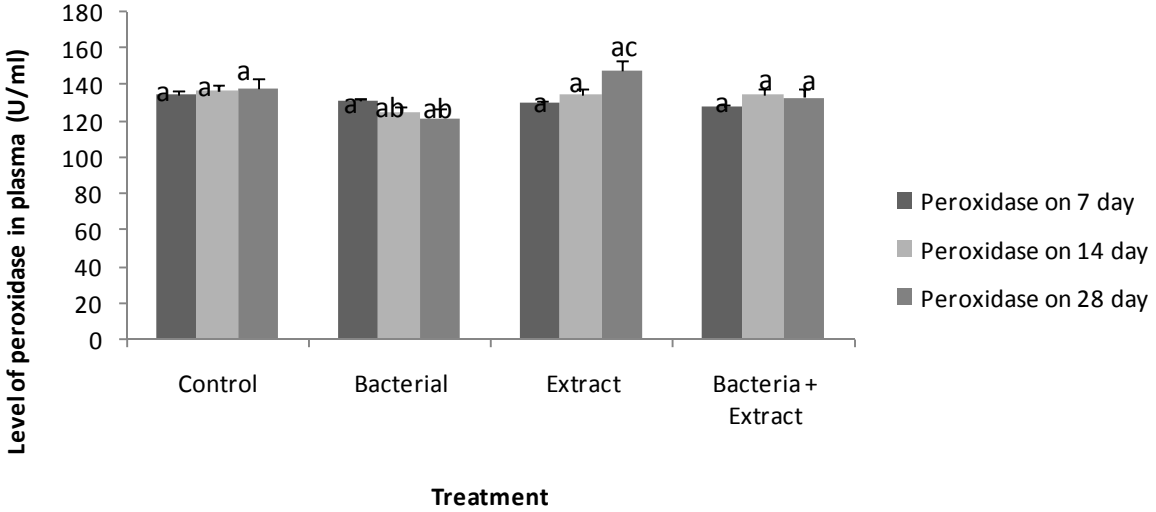
نتایج

در مدت زمان انجام تحقیق تعدادی مرگ و میر در بین ماهی‌های تحت تیمار مشاهده شد و ماهی‌های تحت تیمار عفونت باکتریایی بخصوص در پایان دوره علائم عفونت باکتریایی را نشان دادند... حال آنکه در دیگر تیمارها علائم بیماری مشاهده نگردید. تغییرات سطح ایمنوگلبولین IgM و پراکسیداز، کمپلمان تام و همچنین لیزوزیم در پلاسمای ماهی‌ها در تیمارهای مختلف و گروه کنترل به صورت نمودار در اشکال ۱تا٤ به ترتیب دیده می‌شود.



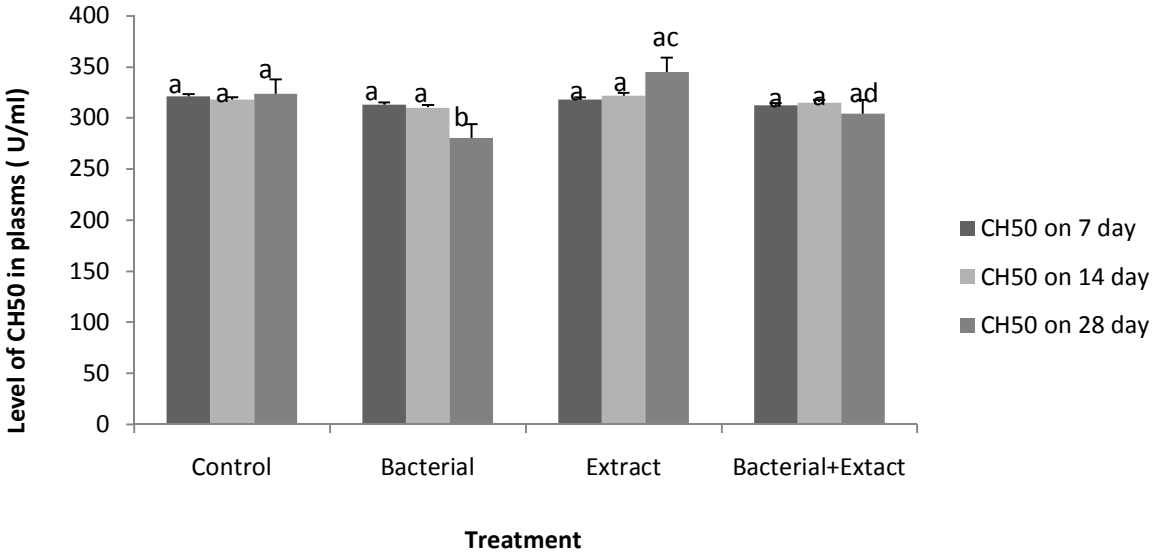
شکل ۱- تغییر سطح ایمنوگلبولین پلاسما درتیمارهای مختلف ماهی‌ها

پس از شروع آزمایش سطح ایمنوگلبولین در ماهی‌های تحت تیمار باکتری در نمونه‌برداری‌های صورت گرفته در روزهای ١٤ و ۲۸بطور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش یافت. حال آنکه در اولین نمونه‌برداری تغییر معنی‌داری در غلظت IgMماهی‌های تحت تیمار مشاهده نگردید. اگرچه سطح IgM در پلاسمای ماهی‌هایی که با عصاره درمنه دشتی در طی دوره آزمایش بصورت یک روند صعودی است و افزایش سطح IgM در این ماهی‌ها در مقایسه با ماهی‌های گروه کنترل اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) دیده می‌شود. اختلاف سطح IgM در پلاسمای ماهی‌هایی که تحت عفونت باکتریایی بوده و با عصاره درمنه دشتی تغذیه شده‌اند نیز از نظر آماری در مقایسه با ماهی‌های گروه کنترل بی‌معنی است.



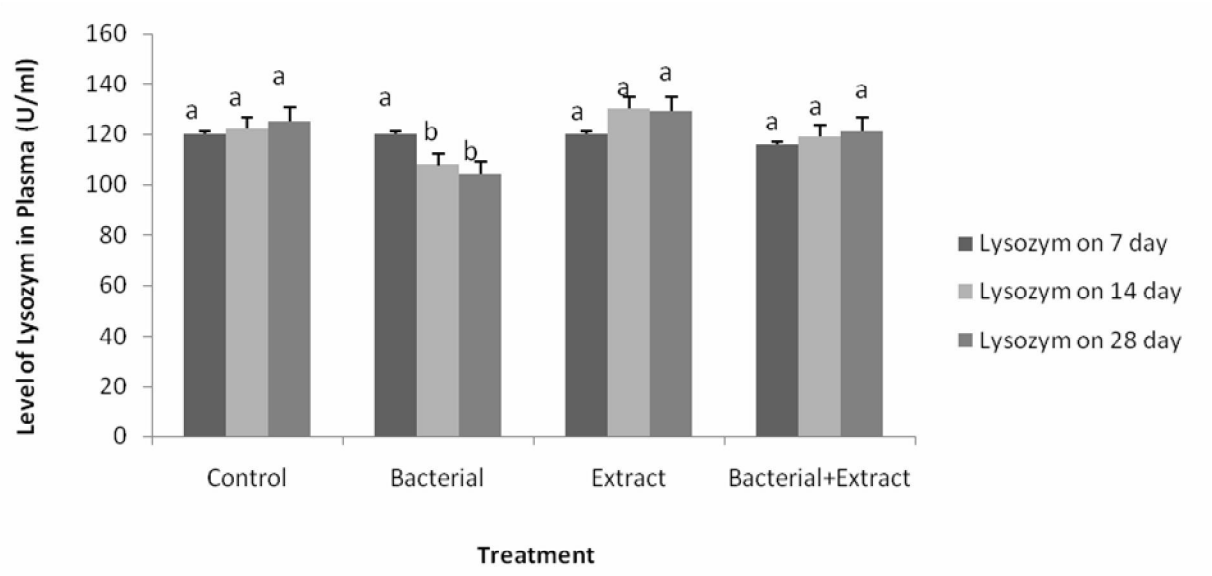
شکل ۲- تغییر سطح پراکسیداز پلاسما درتیمارهای مختلف ماهی‌ها

هیچ گونه اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) در سطح پراکسیداز در ماهیانی که با عصاره درمنه دشتی تغذیه شده و در معرض عفونت باکتریایی قرار گرفته بودند در مقایسه با ماهی-های گروه کنترل در طی دوره آزمایشی و در تمامی مراحل نمونه‌برداری مشاهده نگردید. حال آنکه، بین سطح پراکسیداز ماهی‌های قرار گرفته در معرض عفونت باکتریایی و ماهی‌هایی که با عصاره درمنه دشتی تغذیه شده‌اند در سومین مرحله نمونه برداری تفاوت فاحشی از نظر آماری ($p < 0.05$) وجود دارد.



شکل ۳- تغییر سطح کمپلمان تام پلاسما در تیمارهای مختلف ماهی‌ها

سطح کمپلمان تام پلاسما در ماهیان قرار گرفته در معرض عفونت باکتریایی پس از گذشت ۲۸ روز بطور معنی‌داری ($p < 0.05$) در مقایسه با ماهی‌های گروه کنترل کاهش یافت. در حالی که در دیگر زمان‌های نمونه‌برداری هیچ گونه اختلاف معنی‌داری در سطح کمپلمان این ماهی‌ها مشاهده نگردید. افزایش معنی‌دار ($p < 0.05$) سطح کمپلمان پلاسما در ماهی‌هایی که با عصاره درمنه دشتی تغذیه شده‌اند در مقایسه با ماهی‌هایی که علاوه بر تغذیه با عصاره در معرض عفونت باکتریایی نیز قرار داشته‌اند و نیز ماهی‌هایی که بدون دریافت هیچ گونه مکملی در معرض عفونت باکتریایی بوده‌اند نیز قابل ملاحظه است.



شکل ٤- تغییر سطح لیزوزیم پلاسما درتیمارهای مختلف ماهی‌ها

میزان سطح لیزوزیم در روز ۲۸ام از شروع نمونه‌برداری از ماهیان قرار گرفته در معرض عفونت باکتریایی در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) نشان می‌دهد. در حالی که، در سایر تیمارها در طی مراحل مختلف نمونه‌برداری در کل دوره آزمایشی هیچ گونه اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) در سطح لیزوزیم پلاسما مشاهده نگردید.

بحث

مطالعات زیادی در مورد اثرات درمانی عصاره گیاه درمنه دشتیدر بیماری‌های مختلف صورت گرفته است و نتایج علمی قابل توجهی در این زمینه بدست آمده است. تاثیر درمانی عصاره یدرمنه دشتی به عنوان ضدعفونی کننده، ضد انگل آسکاریس، تب بر، مسکن دردهای احشایی و در گذشته به عنوان تسکین دردهای عصبی و به عنوان تسهیل کننده انقباضات رحم

در هنگام زایمان استفاده می کردند.بررسی ها نشان داده اسانس فرار استخراج شده از تعداد زیادی گیاهان معطر دارای اثرات ضدسرطانی، ضد درد، ضد التهاب و غیره میباشند. (Ravizza et al. 2008)

آرتمیزین یک سزکویی ترپن لاکتون است که از گیاه درمنه سیبری به دست می‌آید، آرتمیزن در ساختمان شیمیایی خود دارای یک گروه اندوپراکسید تری‌اکسان است که فعالیت بیولوژیک از جمه فعالیت ضدمالاریایی دارد (۱۲). در پزشکی سنتی ایران، از دم کرده این گیاه برای درمان نارسایی کبد، گلودرد، عفونت گوش، اشتهاآور، ضد انگل اسکاریس،درمان نفخ و ضد التهاب استفاده می‌شود (۵). فلور میکروبی دستگاه گوارش نقش مهمی در تغذیه، سم زدایی ترکیبات مشخص، رشد و حفاظت در مقابل باکتری‌های پاتوژن ایفا می‌کند. در جوجه‌ها عدم وجود میکروفلور طبیعی یک عامل اصلی برای ایجاد عفونت باکتریایی می‌باشد. از طرفی مشخص شده که فلور میکروبی نرمال دستگاه گوارش دارای آثار مثبتی بر سیستم ایمنی بدن می‌باشد. اسانس‌ها نقش شاخص و عملکردی مهمی در تغییر و اصلاح میکروفلور روده‌ای موضعی شدن باکتری‌های پاتوژن ایفا می‌کنند. به نظر می‌رسد بیشترین خاصیت ضدمیکروبی در کلیه اسانی‌های مورد مطالعه از ترکیب‌های مونوترپنی ناشی میفشود. ثابت شده است که ترکیب اصلی گیاه درمنه یک مونوترپن به نام تیوجن می‌باشد، مصرف این گیاه موجب افزایش ترشح اسید معده و تولید صفرا می‌شود که در دسترسی بهتر به مواد مغذی و تکامل سیستم ایمنی وو حجم آنتی‌بادی تولیدی تآثیرگذار است (۲۱).پراکسیدازها آنزیم‌های واجد هم می‌باشند که در اکسیداسیون انواع بسیاری از گزنوبیوتیک‌ها توسط پراکسید هیدروژن نقش ایفا می‌نمایند (۲۸). افزایش سطح فعالیت پراکسیدازها در پلاسمای ماهی-هایی که از عصاره ی درمنه دشتی تغذیه نموده‌اند نشان دهنده افزایش توان سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی ماهی است. حال آنکه کاهش سطح این آنزیم در ماهی‌هایی که در مواجه با عفونت باکتریایی بوده‌اند نشان از برهم خوردن تعادل بین سیستم دفاعی بدن است که این امر سبب بروز آسیب‌های جدی به بخش‌های مختلف بدن از جمله سیستم ایمنی ماهی‌ها می‌گردد.

ایمنوگلبولین‌ها یا آنتی‌بادی‌ها دسته‌ای از گلیکوپروتئین‌ها می‌باشند که در سرم و مایعات بافتی تمام مهره‌داران یافت می‌شود. آنتی‌بادی‌ها توسط پلاسموسیت‌ها تولید می‌شود و پلاسموسیت‌ها نیز از لنفوسیت‌های B مشتق می‌شوند (۲۹). ایمنوگلبولین‌ها نقش مهمی در مقابله با بیماری‌های عفونی باکتریایی ایفا می-کند. لذا کاهش سطح فعالیت آنها می‌توان منجر به تضعیف سیستم ایمنی ماهی‌ها گردد. کاهش

معنی‌دار ($p < 0.05$) سطح ایمنوگلبولین در ماهی‌های مواجه شده با عفونت باکتریایی در مقایسه با نمونه‌های گروه شاهد و ماهیانی که با عصاره ی درمنه دشتیتغذیه شده‌اند نشان دهنده تاثیر باکتری در کاهش سطح ایمنوگلبولین پلاسما در این ماهیان است. عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین ماهیانی که با عصاره ی درمنه دشتی تغذیه شده‌اند و در مواجه با عفونت باکتریایی نیز قرار داشتند نیز حاکی از تاثیر عصاره ی درمنه دشتی در کاهش عوارض ناشی از عفونت باکتریایی بر سیستم ایمنی این ماهی‌ها است.

کمپلمان‌ها در واقع پروتئین‌های فاز حاد سیستم ایمنی محسوب می‌شوند و غلظت آنها معمولا پس از نکروز سلولی و مرگ بافتی تغییر می‌کند. به عبارتی، تغییر سطح کمپلمان‌ها به عنوان یک پاسخ فاز حاد سیستم ایمنی نوعی واکنش سیستمیک تعمیم یافته محسوب می‌شود که می‌توان آن را به التهاب و پاسخ ایمنی ذاتی مربوط دانست (۲۷). کاهش سطح کمپلمان تام پلاسما می‌تواند ماهیان را نسبت به ابتلا به عفونت‌های باکتریایی مستعد نماید. با توجه به نتایج بدست آمده کاهش سطح کمپلمان تام پلاسما در ماهی‌های در معرض عفونت باکتریایی می‌تواند نشان دهنده تاثیر آن در تضعیف سیستم ایمنی ماهی‌ها باشد. حال آنکه عصاره ی درمنه دشتی با پیشگیری از مرگ سلولی و افزایش توان ترمیمی بافت‌ها می‌تواند سیستم ایمنی ماهی‌ها تقویت نماید.

لیزوزیم توسط گلبولهای سفید منتشر در بافت های مختلف و گردش خون ترشح می شود در ترشحات موکوسی، آبشش‌ها، بافت-های کلیه، طحال و دستگاه گوارش و سرم خون ماهیان یافت می‌شود و قادر به شکستن پیوند های گلیکوزیدی لایه پپتیدو گلیکان موجود در دیواره‌ی سلولی باکتری‌های گرم مثبت است (۷). کاهش سطح لیزوزیم در ماهی‌هایی که در مواجه با عفونت باکتریایی قرار داشتند تضعیف سیستم ایمنی را نشان می-دهد. همچنین عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین سطح لیزوزیم در ماهی‌های گروه کنترل و ماهی‌هایی که با عصاره ی درمنه دشتی تغذیه شده‌اند نیز حاکی از تاثیر این عصاره ی در تقویت سیستم ایمنی است. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان چنین استدلال کرد که ترکیبات موجود در عصاره ی درمنه دشتی بویژه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند با تقویت سیستم ایمنی از اثرات سوء باکتری ها بر سیستم ایمنی ماهی‌ها پیشگیری نماید. در واقع، آنتی‌اکسیدان‌ها از غشای سلول‌های فاگوسیتوز کننده محافظت می‌نمایند (۱٤). علاوه براین سایر ترکیبات موجود در عصاره گیاهان دارویی می‌تواند موجب تقویت سیستم ایمنی گردد (۱۲)، از سویی دیگر، از بروز بسیاری از بیماری‌های ناشی از خود سرکوبی سیستم ایمنی نیز جلوگیری نماید (۳۰).

عصاره ی درمنه دشتی به عنوان یک عصاره دارویی موجب افزایش توان سیستم

ایمنی می شود. بنابراین استفاده از مکمل گیاهی عصاره ی درمنه دشتی در جیره غذایی ماهی‌ها می‌تواند با افزایش توان سیستم ایمنی و تقویت آن شود و راه کار مناسبی برای پیشگیری اثرات سوء احتمالی ناشی از تضعیف سیستم ایمنی ماهی‌ها در نتیجه عوامل بیماریزا در مزارع پرورشی و تاثیر آن بر سیستم ایمنی ماهی‌ها باشد.

منابع

۱- اخلاقی م.، کشاورز م.، ۱۳۸۱: وقوع استرپتوکوکوریس در مزارع پرورش قزل آلای استان فارس. مجله تحقیقات دامپزشکی ایران، دوره سوم، شماره ۲، ۱۸۳-۱۸۹.

۲- سلطانی م.، ۱۳۸۰: بیماریهای آزاد ماهیان. انتشارات دانشگاه تهران.

۳- سلطانی م.، فدایی فرد ف.، شریف پور ع.، زرگر ا.، ۱۳۸۷: مطالعه آسیب شناسی تجربی باکتری استرپتوکوکوس در قزل آلای رنگین کمان (*Onchohynchusmykiss*). مجله علمی شیلات ایران، سال هفدهم، شماره ٤، ۸۷-۸۱.

٤- سلطانی م.، نیک بخت غ.، ۱۳۸٦: استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس در مزارع قزل آلای ایران. پنجمین گردهمایی دامپزشکان علوم بالینی ایران، اهواز. ص ٤.

۵- سیم چی ع.، ۱۳۸۷: آشنایی با نانو ذرات (خواص، روش های تولید و کاربرد)، انتشارات موسسه انتشاراتی علمی دانشگاه صنعتی شریف، ۲۸۰ ص.

٦- نفیسی بهابادی، م.، ۱۳۸۵: راهنمای عملی تکثیر وپرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. انتشارات دانشگاه هرمزگان. ۲۸۲ص.

7- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008) Biological effects of essential oils. Food. ChemToxicol. 46: 446–75.

8- Bauer, R. (1996) Echinacea drugs, effects and ac–tive ingredients. Z AerztlFortbild. 90: 111-115.

9- Caspary, W.F. (1992) Physiology and pathophys- iology of intestinal absorption. Am J ClinNutr. 55: 299-308.

10- Cook, N.C., Samman, S. (1999) Flavonoids- chemistry metabolism, cardio perfective effects and dietary sources. J Nutr Biochem.7: 66-76.

11- Dafwang, I. I., Cook, M.E., Sunde, M. L., Bird, H. R. (1985) Bursal, intestinal and spleen weights and antibody response of chicks fed subtherapu- etic levels of dietary antibiotics. Poult Sci. 64: 634-639.

12- Dong, X.F., Gao, W.W., Tong, J.M., Lia, H.Q., Sa, R.N., Zhang, Q. (2007) Effect of polysavone (AlfaAlfa Extract) on abdominal fat deposition and immunity in broiler chickens. Poult Sci. 86: 1955-1959.

13- El-Habbak, M.M.E., Saleh, K., Arbid, M.S., Hagazi, A.G., Sofy, H. (1989) Influence of Garlic (Allium sativum L.) on some biological and bio- chemical changes in Japanese quails with special refrence to its hypocholestrolemic activity. Ar-chive fur Geflugclkunde. 53: 73-79.

14- Engberg, R.M., Hedemann, M.S., Jensen, B.B., Lesser, T.D. (2000) Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and perfor- mance of broilers. Poult Sci. 79: 1311–1319.

15- Fararh, K.M., Atoji, Y., Shimizu, Y., Shiina, T., Nikami, H., Takewaki, T. (2004) Mechanisms of the hypoglycaemic and immunopotentiatingef- fects of Nigella sativa L. oil in streptozotocinin- duced diabetic hamsters. Res Vet Sci. 77: 123-9.

16- Gee, J.M., Lee-Finglas, W., Wortley, G.W., John- son, J.T. (1996) Fermentable carbohydrateele- vate plasma entroglucagon but high viscosity is also necessary to stimulate small bowell mucosal cell proliferation in rats. J Nutr. 105: 827-838.
17- Goel, V., Chang, C., Slama, J.V., Barton, R., Bauer, R., Gahler, R., Basu, T.K. (2002) Alkyl- imides of Echinacea purpurea stimulate alveolar macrophage function in normal rats. Int J Immu- nopharmacol. 2:381-387.
18- Goudarzi, M., Rahbari, S., Hadadzadeh, H., Ye- ganehParsat, M., Shafiyi, A., Pourmaydani, A. (2005) Study the effect of leaf and extract of Artemisia annua on coccidiosis in broiler chickens. J Vet Res (University of Tehran). 61: 339-344.
19- Greathead, H. (2003) Plants and plant extracts for improving animal productivity. ProcNutr Soc. 62: 279-290.
20- Haq, A.U., Meraj, K.A., Rasool, S. (1999) Ef- fect of supplementing Allium sativum (Garlic) and Azadirachtaindica (Neem) leaves in broiler feeds on their blood cholesterol, triglycerides and antibody titre. Int J Agric Biol. 1: 125-127.
21- Hashemi, S.R., Zulkifli, I., Davoodi, H., Zunita, Z., Ebrahimi, M. (2012) Growth performance, intestinal microflora, plasma fatty acid profile in broiler chickens fed herbal plant (Euphorbia hirta) and mix of acidifiers. Anim Feed Sci Tech- nol. 178: 167–174.
22- Iji, P.A., Saki, A.A., Tivey, D.R. (2001) Intestinal development and body growth of broiler chicks on diets supplemented with non-starch polysac- charides. Anim Feed Sci Technol. 89: 175-188.
23- Khalaji, S., Zaghari, M., Hatami, K.H., Lotfi, L., Nazarian, H. (2011) Black Cumin Seeds, Arte- misia leaves (Artemisia Sieberi), and Camellia L. plant extract as phytogenic products in broiler di- ets and their effects on performance, blood con- stituents, immunity and cecal microbial popula- tion. Poult Sci. 90: 2500–2510.
24- Lavinia, S., Dumitrescu, G., Drinceanu, D., Stef, D. (2009) The effect of medicinal plants and plant extracted oils on broiler duodenum mor- phology and immunological profile of broiler. Rom BiotechnolLett. 9: 1906-1914.
25- Lee, K.W., Everts, H., Beyen, A.C. (2003) Di- etarycarvacrol lowers body gain but improves feed conversion in female broiler chickens. J ApplPoult Res. 12: 394-399.
26- Lopes-Lutz, D., Alviano, D.S., Alviano, C.S., Kolodziejczyk, P.P. (2008) Screening of chemi- cal composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. Phytochem- istry. 69: 1732–1738.
27- Lis-Balchin, M., Deans, S.G., Eaglesham, E. (1998) Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. FlavourFragr J. 13: 98-104.
28- Mahboubi, M., Farzin, N. (2009) Antimicrobial activity of Artemisiasieberi essential oil from central Iran. Iran J Microbiol. 1: 43-48.
29- Mitsch, P., Zitter-Eglseer, K., Kohler, B., Gabler, C., Losa, R., Zimpernik, I. (2004) The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of Clostridium perfingens in the intestines of broiler chickens. J Poult Sci. 83: 669-675.
30- Nie, W., Zhang, Y.X. (1999) Progress of the im- munomodulating effect of polysaccharides and their mechanism. Chin Pharmacol Bull. 15: 3-5.

31- Nikaido, H., Vaara, M. (1985) Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. Microbiol Rev. 49: 1-23.
32- Ouweh, A.C., Tiihonen, K., Kettunen, H., Peu- ranen, S., Schulze, H., Rautonen, N. (2010) In vitro effects of essential oils on potential patho- gens and beneficial members of the normal mi- crobiota. Vet Med. 55: 71-78.
33- Royo, P., Martin-Casabona, N., Martinez, E., Andonegui, M. (1999) In vitro susceptibility of Mycobacterium Kansasii to the difluorinated quinolone of spoufloxacin using a broth microdi- lution and macrodilution MIC system. Int J Tu- berc Lung Dis. 3: 349-53.
34- Takahashi, K., Mashiko, T., Akiba, Y. (2000) Effects of dietary concentration of xylitol on growth in male broiler chicks during immuno- logical stress. Poult Sci. 79: 743-747.
35- Toghyani, M., Tohidi, M., Gheisari, A.A., Ta- beidian, S.A. (2010) Performance, immunity, se- rum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. Afr J Biotech- nol. 9: 6819-6825.
36- Tiihonen, K., Kettunen, H., Bento, M.H.L., Saa- rinen, M., Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Schul- ze, H., Rautonena, N. (2010) The effect of feed- ing essential oils on broiler performance and gut microbiota. Br Poult Sci. 51: 381-392.
37- Viveros, A., Chamorro, S., Pizarro, M., Arija, I., Centeno, C., Brenes, A. (2011) Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal mi- croflora and gut morphology in broiler chicks.
38- Poult Sci. 90: 566-578.Wang, X., Gibson, G.R. (1993) Effect of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. J ApplBacteriol. 75: 373-388.
39- Yousefi, J., Nasir-Ahmadi, A., Jasbi, A.R. (2005) Biological activity Artemisia Haussknechtiies- sential oil. PajouheshSazandegi (In Persian). 29: 28-30.
40- Zhang, C.Y., Yam, K.L., Chikindas, M.L. (2004) Effective control of Listeria monocytogenes by combination of nisin formulated and slowly re-leased into a broth system. Int J Food Microbiol. 90: 15-22.