



سرویس های
وبژه



سرویس ترجمه
تخصصی



کارگاه های
آموزشی



بلاگ
مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری
STES



فیلم های
آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی



مقاله نویسی علوم انسانی



اصول تنظیم قراردادها



آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله

تأثیر تجویز خوراکی عصاره الکلی بره موم زنبور عسل بر پاسخ‌های ایمنی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio*

* سکینه ولی‌پور^۱، مهرزاد مصباح^۲، مهران جواهری‌بابلی^۳ و مجتبی علیشاهی^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات خوزستان، اهواز، ایران، ^۲ دانشیار دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، ^۳ گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهواز، اهواز، ایران، ^۴ دانشیار دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۲۴

چکیده

در این پژوهش اثر عصاره الکلی بره موم زنبور عسل بر برخی پاسخ‌های ایمنی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، ۳۰۰ فینگرلینگ ماهی کپور (با وزن اولیه 50 ± 10 گرم) به ۴ گروه تقسیم شده و با جیره غذایی شاهد و سه غلظت ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد عصاره الکلی بره موم (در ۳ تکرار) با خوراک مخلوط شده و ماهی‌ها به مدت ۶۰ روز با این خوراک تغذیه گردیدند. نمونه‌های خون در روزهای ۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز تهیه و فعالیت لیزوزیم سرم و قدرت باکتری‌کشی سرم، پروتئین تام، سطح آلبومین و گلوبولین سرم اندازه‌گیری گردیدند. در انتهای دوره، تست رویارویی باکتریایی با باکتری *Aeromonas hydrophila* انجام شد و میزان تلفات به مدت ۱۰ روز ثبت گردید. نتایج پژوهش نشان داد که جیره ۰/۵ درصد عصاره الکلی بره موم باعث افزایش معنی‌دار در لایزوزیم سرم، پروتئین کل و گلوبولین می‌گردد ($P < 0/05$). تلفات بعد از تست رویارویی باکتریایی با باکتری آئروموناس هیدروفیلا نیز در تیمار ۰/۵ درصد عصاره الکلی بره موم کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ولی در تیمار ۰/۲۵ و ۰/۱ درصد تلفات معنی‌داری مشاهده نگردید ($P > 0/05$). با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مناسب‌ترین غلظت عصاره الکلی بره موم در جیره برای تحریک ایمنی و افزایش مقاومت در برابر تست رویارویی باکتریایی در ماهی کپور معمولی، غلظت ۰/۵ درصد می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بره موم، *Cyprinus carpio*، تست رویارویی باکتریایی، پاسخ‌های ایمنی

مقدمه

یکی از مشکلاتی که صنعت آبی‌پروری ایران با آن روبرو است، مسأله بروز بیماری‌ها در اثر آشنا نبودن با اصول پرورش آبزیان در مناطق مختلف است که موجب شیوع بیماری و خسارت‌های فراوان می‌شود. در پرورش آبزیان، پیش‌گیری از وقوع بیماری‌ها از طریق اجرای صحیح برنامه‌های امنیت زیستی اهمیت بسیار زیادی دارد و اگر نقصانی در این خصوص پیش آید، بیماری به وقوع می‌پیوندد. اطمینان

از عملکرد سیستم ایمنی در حد مطلوب موجب کنترل بیماری‌ها و کاهش تلفات و خسارت‌ها می‌گردد. اخیراً استفاده از محرک‌های ایمنی در ماهیان پرورشی برای افزایش فعالیت مکانیسم‌های دفاع غیراختصاصی و ایجاد مقاومت در مقابل بیماری‌ها رایج شده است و به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها معرفی شده‌اند. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها از جهت‌های مختلف تهدیدی برای انسان و محیط زیست می‌باشد. افزایش باکتری‌های مقاوم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، تخریب و تهدید محیط زیست به‌ویژه در مواقعی که

* مسئول مکاتبه: valypour_s5742@yahoo.com

الکلی بره موم در جیره در سطح نام برده بر عملکرد رشد و سلامت ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد آزمایش تأثیر نداشت، همچنین استفاده از این ماده سبب تحریک سیستم ایمنی می‌گردد. بنابراین با توجه به اطلاعات بسیار محدود در مورد اثرات بره موم در حیوانات خونسرد به‌ویژه آبزیان، در این پژوهش اثرات عصاره الکلی بره موم بر تحریک ایمنی و تست رویارویی باکتریایی در ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی: تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی کپور معمولی 50 ± 10 گرمی مورد نیاز از مجتمع پرورش ماهی آزادگان ماهیان واقع در ۲۰ کیلومتری جاده اهواز-آبادان تهیه گردید. این ماهی‌ها با استفاده از مخازن مخصوص ماهی پلاستیکی و اکسیژن خالص به دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردیدند. به مدت یک هفته سازش‌دهی ماهی با شرایط آکواریوم و غذای دستی انجام شد. شرایط فیزیکیوشیمیایی آب مورد استفاده در پژوهش به قرار زیر بود. دما: ۲۸-۲۶ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول: $10-8$ ppm، pH: 7.9 ± 0.3 ، $NO_3^- < 0.1$ ppm، $NH_3 < 0.1$ ppm و میزان تعویض روزانه آب ۱۰ درصد حجم آب بود. تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی کپور معمولی در ۴ تیمار و ۳ تکرار (هر تکرار شامل ۲۵ قطعه بچه‌ماهی در آکواریوم ۱۰۰ لیتری) به شرح زیر تقسیم شدند (Deng و همکاران، ۲۰۱۱؛ Azza و Abd-El-Rhman، ۲۰۰۹). تیمار A: تغذیه شده با جیره شامل عصاره الکلی با غلظت ۱ گرم در کیلوگرم. تیمار B: تغذیه شده با جیره شامل عصاره الکلی بره موم با غلظت ۲/۵ گرم در کیلوگرم. تیمار C: تغذیه شده با جیره شامل عصاره الکلی بره موم با غلظت ۵ گرم در کیلوگرم. تیمار D: گروه شاهد. همه تیمارها با جیره‌های مشخص شده به مدت ۶۰ روز تغذیه گردیدند.

آنتی‌بیوتیک به آب‌های سطحی راه یابد و عوارض جانبی این داروها بر بدن ماهی از جدی‌ترین تهدیدهای استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند (علیشاهی، ۱۳۸۳). کپورماهیان یکی از خانواده‌های مهم ماهیان هستند که با داشتن بیش از ۲۰۰۰ گونه در چهار قاره جهان پراکنش یافته‌اند (Kirpichnikov، ۱۹۷۲). ماهی کپور معمولی دارای ارزش شیلاتی بالایی است و پرورش آن نیز در کشور انجام می‌شود. صید سالانه آن تقریباً ۲۰۰ هزار تن بالغ می‌گردد. در سال‌های اخیر گزارش‌های متعددی در مورد ویژگی‌های فرآورده‌های طبیعی ضد میکروبی اختصاصی برای معالجه عفونت‌های میکروبی منتشر شده که یکی از موارد قابل ملاحظه، بره موم یا پروپولیس است. بره موم یا پروپولیس ماده‌ای شبیه موم و از تولیدات زنبورعسل است که ظاهر آن به دلیل دخالت عوامل زیادی، به‌طور گسترده‌ای ممکن است متفاوت باشد (Fernandes، ۲۰۰۷). اما به‌طور معمول حالت آن خمیری و رنگ آن از سبز، قرمز تا قهوه‌ای تیره متفاوت است. پروپولیس دارای بوی مطبوع و خاصیت چسبندگی است که به دلیل واکنش قوی آن با چربی‌ها و پروتئین‌های پوست می‌باشد (Tosi و همکاران، ۱۹۹۶). Cuesta و همکاران (۲۰۰۵) دریافتند که نرخ ویژه رشد به‌طور معنی‌دار در ماهی *Seabream gilthead* تغذیه شده با غذای شامل بره موم تغییر نمی‌کند (Cuesta و همکاران، ۲۰۰۵). Beyraghdar Kashkooli و همکاران (۲۰۱۱)، تأثیر عصاره بره موم بر عملکرد جیره، بازماندگی و برخی فاکتورهای خونی بچه‌ماهیان انگشت‌قد قزل‌آلای رنگین‌کمان را مورد بررسی قرار داده و مشاهده نمودند در بین پارامترهای بیوشیمیایی تنها نسبت: آلبومین و گلوبولین در ماهیان تغذیه شده با جیره شامل ۱/۵ گرم عصاره بره موم به‌صورت معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود ($P < 0.05$). نتایج به‌دست آمده از تست NBT اختلاف معنی‌داری را در بین تیمارهای مختلف نشان داد ($P < 0.05$). همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از عصاره

تهیه عصاره الکلی بره موم: ۱۰۰ گرم بره موم جامد را در ۱ لیتر الکل سفید ۹۶ درجه سانتی‌گراد حل کرده و یک روز در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. بعد آن را با کاغذ صافی ۱۲ میکرون فیلتر کرده و این کار ۲ بار تکرار می‌شود. سپس آن را به مدت ۶ ساعت در Banmari ساخت ممرت آلمان در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود. عصاره آماده شده را درون ظرف تیره و در بسته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری می‌شود (Deng و همکاران، ۲۰۱۱).

تهیه جیره شامل عصاره الکلی بره موم: میزان ۱ کیلوگرم جیره ماهی کپور معمولی، در یک سینی پلاستیکی پخش شده و میزان مناسب عصاره الکلی بره موم برای ایجاد غلظت پیش‌بینی شده (۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد) در پژوهش، روی خوراک اسپری می‌شود. سپس خوراک کاملاً مخلوط شده و دوباره این کار انجام می‌شود تا میزان مشخص شده بره موم به‌طور همگن در خوراک توزیع گردد. خوراک شامل عصاره بره موم را به مدت ۱۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار می‌دهیم تا خشک شود. خوراک حاصل در نایلون پلاستیکی بسته‌بندی شده و در یخچال تا هنگام مصرف نگهداری می‌گردد (Alishahi و همکاران، ۲۰۱۰).

۱۰ سی‌سی از عصاره الکلی را ابتدا در پتری‌دیش قرار داده شده سپس آن را وزن کرده است. با حذف وزن پتری‌دیش وزن عصاره به‌دست می‌آید. سپس آن را حرارت داده تا کل الکل تبخیر شده تا ماده خشک شده آن در ته ظرف باقی بماند. عصاره خشک شده را دوباره وزن کرده، وزن عصاره خشک شده در ۱۰ سی‌سی مایع الکلی حاصل می‌گردد. حال براساس وزن ماده خشک مقدار مورد نظر از عصاره الکلی را به‌دست آورده و به غذای تیمارها به‌صورت اسپری اضافه می‌گردد. تهیه جیره با غلظت ۰/۱ درصد عصاره الکلی: ۶ سی‌سی از عصاره الکلی را در ۱ کیلوگرم جیره به‌صورت اسپری بر روی غذا ریخته می‌شود و آن را در هوای آزاد به مدت ۲ روز قرار داده تا خشک

شود. تهیه جیره با غلظت ۰/۲۵ درصد عصاره الکلی: ۱۵ سی‌سی از عصاره الکلی را در ۱ کیلوگرم جیره به‌صورت اسپری بر روی غذا ریخته می‌شود و آن را در هوای آزاد به مدت ۲ روز قرار داده تا خشک شود. تهیه جیره با غلظت ۰/۵ درصد عصاره الکلی: ۳۰ سی‌سی از عصاره الکلی را در ۱ کیلوگرم جیره به‌صورت اسپری بر روی غذا ریخته می‌شود و آن را در هوای آزاد به مدت ۲ روز قرار داده تا خشک شود. **خون‌گیری:** در روزهای صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ پژوهش و بعد از بیهوش نمودن ماهی توسط ماده بیهوشی MS222 با دوز ۳۰ میلی‌گرم در لیتر، به‌وسیله سرنگ انسولین با استفاده از ماده ضدانعقاد هپارین و از ورید ساقه دمی خون‌گیری انجام شد در هر مرحله از ۹ ماهی نمونه خون تهیه گردید، نمونه مربوط به آزمایش‌های ایمنی به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و سپس سرم آن با سانتریفوژ در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی گردید. سرم‌ها در ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شدند (Schaperclaus، ۱۹۹۹).

آزمایش‌های انجام شده روی نمونه‌ها

روش رویارویی: بعد از پایان دوره، ۱۰ قطعه ماهی در هر تیمار با باکتری زنده آئروموناس هیدروفیلا به‌میزان دو برابر دوز ایجادکننده ۵۰ درصد تلفات به روش تزریق داخل صفاقی، تزریق گردیدند. به این منظور باکتری آئروموناس هیدروفیلا که در محیط TSB کشت داده شده بود به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید، باکتری در فاز رشد لگاریتمی به‌وسیله سانتریفوژ از محیط جدا و در سرم فیزیولوژی استریل منتقل شد. با استفاده از لوله‌های مک‌فارلند غلظت باکتری در سرم فیزیولوژی به‌میزان 4×10^7 تنظیم گردید. تعداد تلفات روزانه به مدت ۱ هفته ثبت شده و در انتها تلفات تجمعی هر تیمار مشخص و مقایسه گردید (Bagenal، ۱۹۷۸).

اندازه‌گیری پارامترهای ایمنی

اندازه‌گیری توتال پروتئین و گلوبولین: میزان پروتئین کل به روش توصیه شده توسط Lowry و همکاران (۱۹۵۱) و میزان گلوبولین سرم به روش توصیه شده توسط Swain و همکاران (۲۰۰۷) اندازه‌گیری گردید. میزان پروتئین کل سرم براساس روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) با استفاده از کیت استاندارد تخمین پروتئین (Zistchem Diagnostics/Iran) تعیین شد. برای تخمین گلوبولین ۵۰ میکرولیتر محلول سولفات آمونیوم اشباع به صورت قطره قطره به ۵۰ میکرولیتر سرم به صورت گردابی اضافه می‌شود. سانتیفریوژ در دور ۸۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه انجام می‌شود. سپس ۲۰ میکرولیتر از این نمونه با ۸۰ میکرولیتر بافر بیکربنات-کربنات (pH=۹/۳) حل می‌شود و میزان پروتئین با کیت تخمین پروتئین استاندارد تعیین می‌شود. میزان کل گلوبولین سرم با کم کردن میزان پروتئین به دست آمده ثانویه از پروتئین کل سرم به دست می‌آید.

اندازه‌گیری آلبومین: مقادیر آلبومین توسط کیت‌های تجاری زیست‌شیمی و به روش Bradford (۱۹۷۶) انجام شد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت لیزوزیم سرم: برای اندازه‌گیری میزان فعالیت لایزوزیم سرم از روش توپیدومتری که توسط Ellis (۱۹۹۰) و Obach (۱۹۹۳) توصیه شده است با مقداری تغییرات استفاده گردید. در این روش، ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر از سرم یا موکوس نمونه با ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (سیگما) در بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار (pH=۶/۲) در گوده‌های پلیت الیزا مخلوط می‌گردد و جذب نوری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در زمان‌های ۱ و ۶ دقیقه بعد از مخلوط‌سازی در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. فعالیت لایزوزیم باعث لیز شدن باکتری و کاهش جذب نوری می‌گردد. یک واحد فعالیت لایزوزیم با میزان کاهش

جذب نوری به میزان ۰/۰۱ در دقیقه در هر میلی‌لیتر سرم مشخص می‌شود.

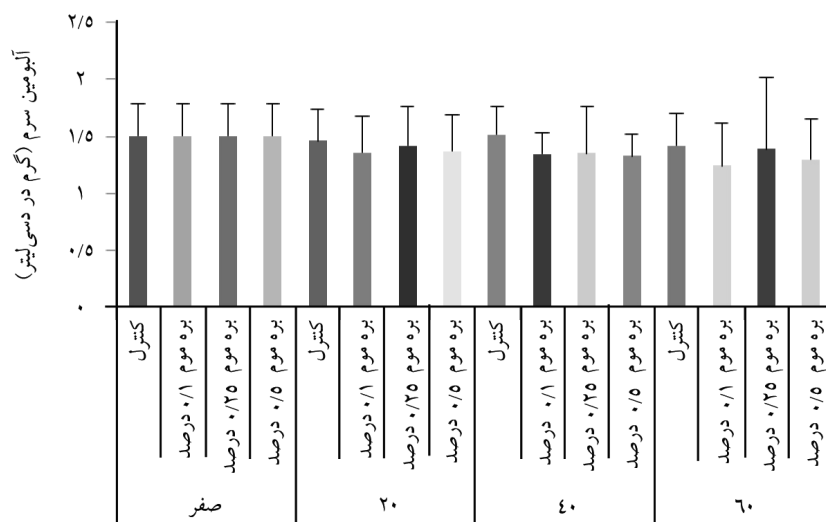
اندازه‌گیری میزان فعالیت باکتری‌کشی سرم
Bactericidal activity: برای اندازه‌گیری قدرت باکتری‌کشی سرم از روش توصیه شده توسط Kajita و همکاران (۱۹۹۰) با کمی تغییرات استفاده گردید. ابتدا باکتری آئروموناس هیدروفیلا به مدت ۴۸ ساعت در محیط TSB کشت داده شد و سپس سلول‌های باکتریایی با سانتیفریوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جمع‌آوری و با افزودن مقداری بافر فسفات سدیم استریل به آن‌ها جذب نوری سوسپانسیون به دست آمده در طول موج ۵۴۰ نانومتر برابر ۱ تنظیم گردید. تعداد باکتری در سوسپانسیون حاصل شمارش شده و با استفاده از روش تهیه رقت‌های متوالی بر مبنای ۱۰، سوسپانسیون ۱۰^۵ باکتری در میلی‌لیتر در ژلاتین ورنال بافر استریل (pH=۷/۵) و شامل ۰/۵ میلی‌مول در میلی‌لیتر یون کلسیم و ۰/۱۵ میلی‌مول در میلی‌لیتر یون منیزیم تهیه گردید. نمونه‌های سرمی با نسبت ۱:۳ با بافر بالا رقیق گردیدند. سوسپانسیون باکتریایی به دست آمده با نسبت ۱:۱ با سرم رقیق شده ترکیب و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با حرارت ملایم انکوبه گردیدند. سپس ۵ میکرولیتر از مخلوط سرم و باکتری در محیط کشت TSA در ۳ تکرار کشت داده شد. محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیده و سپس به کمک دستگاه کلونی کانتر تعداد پرگنه باکتریایی رشد یافته در روی محیط کشت شمارش گردید. نتایج به صورت متوسط تعداد باکتری شمارش شده در هر ۳ تکرار برای هر نمونه گزارش می‌شود.

روش‌ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده‌ها: از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ برای آنالیز داده‌ها استفاده گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از تست ANOVA یک‌طرفه و تست چنددامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین استفاده شد.

نتایج

است. نتایج پژوهش نشان داد که تأثیر بره موم بر روی میزان سرم آلبومین ماهی کپور در تیمارهای مختلف غذایی معنی دار نبوده است ($P > 0/05$).

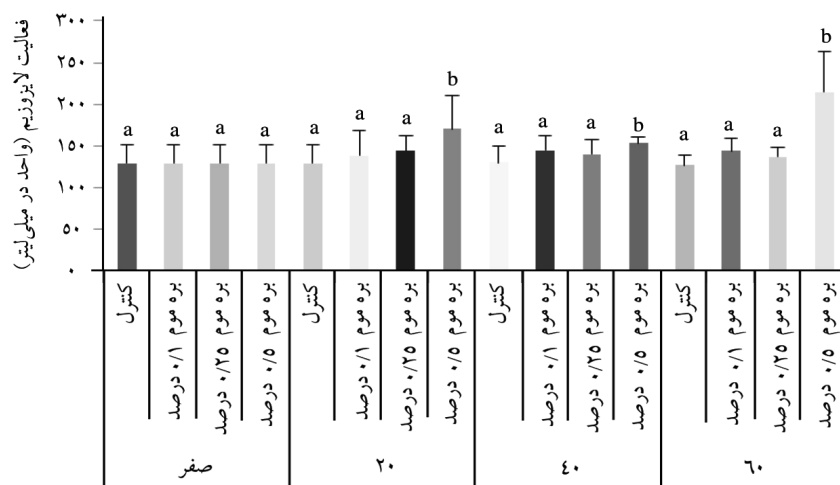
میزان آلبومین: مقایسه میزان آلبومین سرم در تیمارهای عصاره الکلی بره موم در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ درصد و کنترل در شکل ۱ آورده شده



شکل ۱- نتایج مربوط به میزان آلبومین سرم در تیمارهای عصاره الکلی بره موم.

گردیده است ($P < 0/05$)، اما در تیمار عصاره الکلی ۰/۱ و ۰/۲۵ درصد نسبت به تیمار کنترل افزایش معنی دار فعالیت لایزوزیم در روزهای ۲۰، ۴۰ و ۶۰ مشاهده نگردیده است ($P > 0/05$).

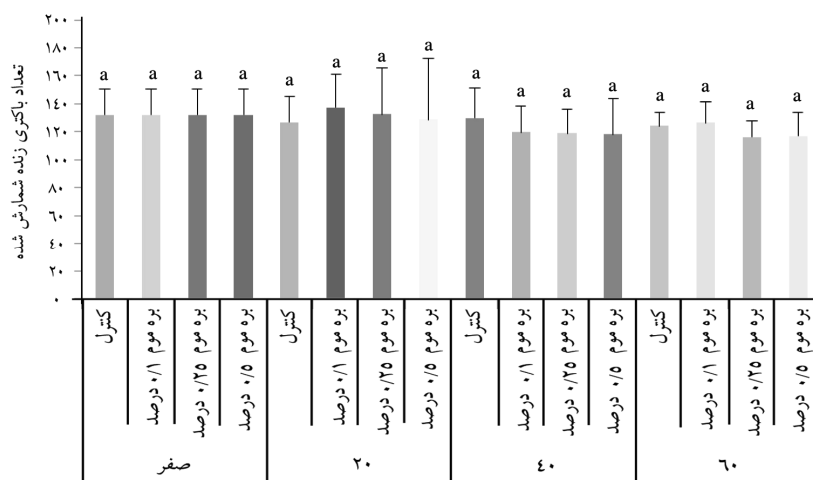
میزان لایزوزیم سرم: نتایج اندازه‌گیری میزان لایزوزیم در شکل ۲ آورده شده است؛ تیمار عصاره الکلی ۰/۵ درصد در روزهای ۲۰، ۴۰ و ۶۰ پژوهش باعث افزایش معنی داری فعالیت لایزوزیم سرم



شکل ۲- نتایج مربوط به میزان فعالیت لایزوزیم سرم در تیمارهای عصاره الکلی بره موم.

قدرت باکتری کشی سرم: مقایسه قدرت باکتری کشی سرم در تیمارهای عصاره الکلی بره موم در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ درصد و کنترل در شکل ۳ آورده شده

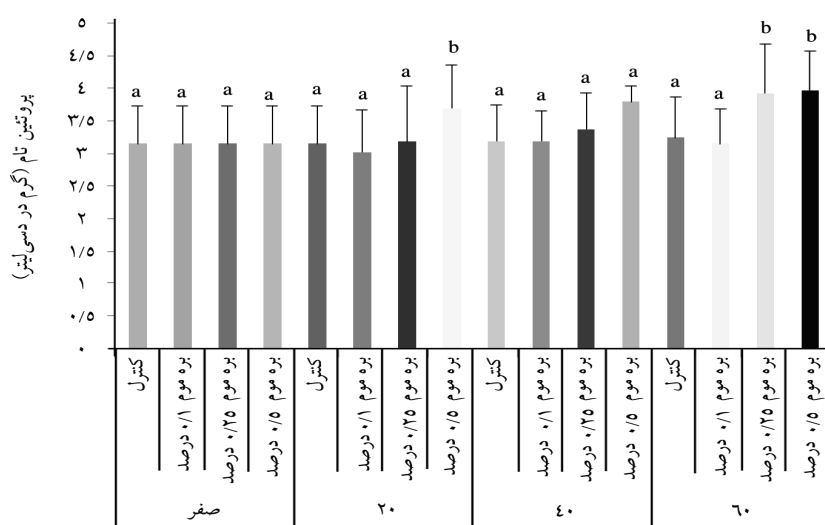
است. نتایج پژوهش نشان داد که تأثیر بره موم بر روی میزان قدرت باکتری کشی سرم ماهی کپور در تیمارهای مختلف غذایی معنی دار نبوده است ($P > 0/05$).



شکل ۳- نتایج مربوط به میزان قدرت باکتری کشی سرم در تیمارهای عصاره الکلی بره موم.

پروتئین تام سرم: مقایسه میزان پروتئین تام سرم در تیمارهای عصاره الکلی بره موم در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ درصد و کنترل در شکل ۴ آمده است. تغذیه ماهی کپور معمولی با عصاره الکلی ۰/۵ درصد وجود افزایش ظاهری میزان پروتئین سرم در هر سه مرحله نمونه‌گیری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در

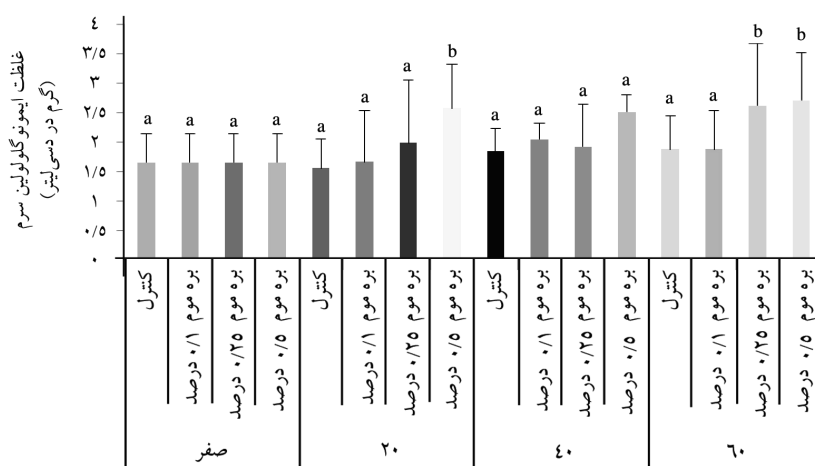
مورد تیمار تغذیه شده با عصاره الکلی ۰/۲۵ درصد در مرحله سوم نمونه‌گیری تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. با این وجود مشاهده نکردن تفاوت معنی‌دار در تیمار تغذیه شده با عصاره الکلی ۰/۱ درصد با گروه کنترل در هر سه مرحله نمونه‌گیری مشاهده نگردیده است ($P > 0/05$).



شکل ۴- نتایج مربوط به میزان پروتئین تام سرم در تیمارهای عصاره الکلی بره موم.

مرحله سوم نمونه‌گیری تفاوت معنی‌داری مشاهده گردیده است. با این وجود مشاهده نکردن تفاوت معنی‌دار در تیمار تغذیه شده با عصاره الکلی ۰/۱ درصد با گروه کنترل در هر سه مرحله نمونه‌گیری مشاهده نشده است ($P > 0.05$). بیش‌ترین تأثیر بر روی گلوبولین سرم در تیمار ۰/۵ درصد و کم‌ترین تأثیر در تیمار ۰/۱ درصد مشاهده گردیده است.

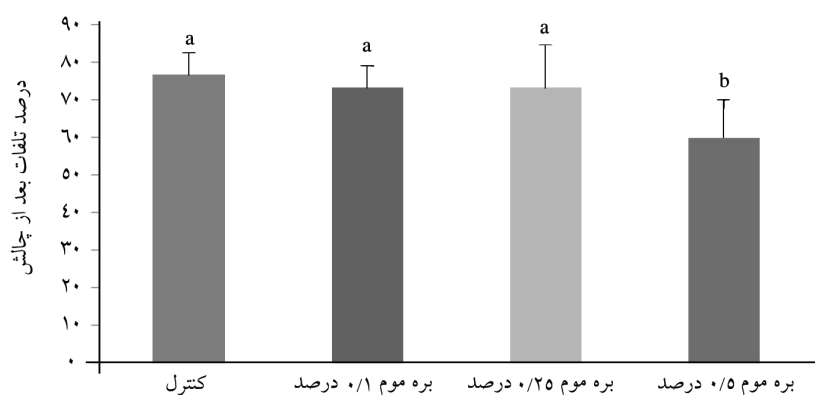
گلوبولین سرم: مقایسه میزان گلوبولین سرم در تیمارهای عصاره الکلی بره موم در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ درصد و گروه کنترل در شکل ۵ آمده است. تیمار عصاره الکلی ۰/۵ درصد در روزهای ۲۰، ۴۰ و ۶۰ پژوهش باعث افزایش معنی‌داری در گلوبولین سرم گردیده است ($P < 0.05$). در مورد تیمار تغذیه شده با عصاره الکلی ۰/۲۵ درصد در



شکل ۵- نتایج مربوط به میزان گلوبولین سرم در تیمارهای عصاره الکلی بره موم.

الکلی ۰/۵ درصد در روزهای ۲۰، ۴۰ و ۶۰ پژوهش باعث کاهش معنی‌داری در میزان تلفات گردیده است ($P < 0.05$). کم‌ترین میزان تلفات بعد از تست رویایی باکتریایی در تیمار ۰/۵ درصد و بیش‌ترین تلفات در تیمار ۰/۱، ۰/۲۵ درصد و گروه کنترل مشاهده گردید.

رویاریایی باکتریایی: نتایج مربوط به درصد تلفات تیمار (در تیمارهای عصاره الکلی بره موم در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ درصد و گروه کنترل) به مدت ۱۰ روز بعد از تست رویاریایی باکتریایی با باکتری آئروموناس هیدروفیلا در شکل ۶ آورده شده است. تیمار عصاره



شکل ۶- نتایج مربوط به چالش تیمارهای با باکتری آئروموناس هیدروفیلا در تیمارهای عصاره الکلی بره موم.

بحث

ماهی‌ها به علت قرار گرفتن در سطوح پایین تکاملی نسبت به حیوانات خون‌گرم، دارای سیستم ایمنی ساده‌تر و ابتدایی‌تری هستند. بنابراین ایمنی اختصاصی در حیوانات خون‌سرد به‌ویژه ماهی‌ها کم‌تر توسعه یافته و بیش‌تر بازوی ایمنی غیراختصاصی وظیفه دفاعی را به عهده گرفته است. این وضعیت ویژه باعث اهمیت خاص محرک‌های ایمنی (که باعث تحریک ایمنی غیراختصاصی می‌گردند) در ماهی شده است. به‌طوری‌که حتی برای افزایش کارایی واکسن‌ها، باید در کنار استفاده از واکسن‌ها از محرک‌های ایمنی غیراختصاصی نیز استفاده نمود (Iwama و Nakanishi، ۱۹۹۶). نتایج پژوهش نشان داد که استفاده از بره موم عسل با غلظت ۰/۵ درصد میزان فعالیت لیزوزیم سرم خون را در روزهای ۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ پژوهش به‌طور معنی‌داری افزایش داده است. لایزوزیم پروتئینی با ارزش در ماهی است که یکی از اجزای مهم ایمنی غیراختصاصی ماهی بوده و باعث تخریب جدار باکتری‌ها، فعال‌سازی کمپلمان و افزایش فعالیت بیگانه‌خواری، به‌عنوان اپسونین (شامل کمپلمان و آنتی‌بادی‌ها)، در ماهی می‌گردد (Sakai، ۱۹۹۹). افزایش فعالیت لایزوزیم بعد از تجویز محرک‌های ایمنی، واکسن‌ها و برخی پروبیوتیک‌ها در ماهی گزارش گردیده است (Swain و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین افزایش فعالیت لایزوزیم سرم در ماهی کاراس (Chen و همکاران، ۲۰۰۳)، ماهی Large yellow croaker (Jain و Wu، ۲۰۰۳) و ماهی کپور معمولی (Jain و Wu، ۲۰۰۴) بعد از تجویز جیره عصاره‌های گیاهی گزارش شده است. قدرت باکتری‌کشی سرم ماهی‌ها تحت تأثیر تجویز جیره عصاره الکلی بره موم قرار نگرفت. قدرت باکتری‌کشی سرم نشان‌دهنده ایمنی هومورال غیراختصاصی ماهی می‌باشد و دفاع غیراختصاصی سرم در برابر عفونت‌های باکتریایی را

نمایان می‌نماید، برخی گزارش‌ها بیانگر تأثیر نداشتن افزایش قدرت باکتری‌کشی سرم بعد از تجویز محرک‌های ایمنی است. Kajita و همکاران (۱۹۹۰) و Christyabapita و همکاران (۲۰۰۷) به‌ترتیب در ماهی تیلایپا و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*)، تأثیر نداشتن عصاره گیاه *Solanum trilobatum* در قدرت ضدباکتریایی سرم را گزارش نمودند، ولی برخی گزارش‌ها بیانگر تأثیر افزایش قدرت باکتری‌کشی سرم بعد از تجویز محرک‌های ایمنی است (Misra و همکاران، ۲۰۰۹). نتایج این پژوهش با آن‌ها انطباق ندارد که علت را می‌توان به ویژگی‌های عصاره مورد استفاده و نیز گونه ماهی مورد بررسی نسبت داد. Alishahi و همکاران (۲۰۱۰) تجویز عصاره گیاه آلوئه‌ورا را در افزایش قدرت باکتری‌کشی سرم ماهی کپور معمولی مؤثر دانستند. البته در گزارش‌های دیگری در به‌کارگیری از سایر محرک‌های ایمنی در ماهی و بررسی اثر تحریک ایمنی آن‌ها بر فعالیت آنزیم مورد نظر، افزایش ندادن لایزوزیم گزارش شده است. Yin و همکاران (۲۰۰۶) اثر تجویز جیره عصاره گیاه *Radix scutellaria* به‌عنوان یک ماده محرک ایمنی را بر فعالیت آنزیم در ماهی تیلایپا بررسی و گزارش کردند که این فاکتور تغییری پیدا نکرده است. میزان گلوبولین سرم تقریباً در تمام تیمارهای تغذیه شده با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی بره موم افزایش نسبی را نشان داد که این افزایش در تیمار ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/05$). گزارش‌های متعددی از افزایش گلوبولین سرم به دنبال استفاده از محرک‌های ایمنی گیاهی وجود دارد. سطح پروتئین تام سرم نیز افزایش نسبی به دنبال تجویز عصاره الکلی بره موم نشان داد. هر چند این افزایش فقط در تیمار ۰/۵ درصد از نظر آماری معنی‌دار بود. سطح پروتئین سرم شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت دفاع ایمنی و سلامت

ماهی می‌باشند (Siwicki و همکاران، ۱۹۹۴). بر خلاف تأثیر تجویز جیره بره موم بر گلوبولین و پروتئین تام سرم، این ماده بر آلبومین سرم تأثیر معنی‌داری در هیچ‌کدام از مراحل نمونه‌گیری نداشت. از آنجا که آلبومین یک پروتئین غیرایمنی در سرم بوده و نقش چندانی در واکنش‌های دفاعی ماهی ندارد منطقی به نظر می‌رسد که از تجویز محرک‌های ایمنی تأثیر نپذیرد. تلفات بعد از تست رویارویی باکتریایی با باکتری آئروموناس هیدروفیلا نیز در تیمار ۰/۵ درصد عصاره الکلی بره موم کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ولی در تیمار ۰/۲۵ و ۰/۱ درصد تلفات معنی‌داری مشاهده نگردید ($P > 0.05$).

یکی از ویژگی‌های اصلی محرک‌های ایمنی افزایش بقای ماهی‌ها پس از چالش با باکتری‌های زنده و پرحدت می‌باشد (Gudmundsdóttir و Magnadóttir، ۱۹۹۷). نتایج مشابهی از کاربرد، پودر برگ گیاه

به‌عنوان نتیجه کلی می‌توان گفت که عصاره الکلی بره موم بیش‌تر فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی ماهی کپور معمولی را تحت تأثیر قرار داده و می‌توان از آن به‌عنوان کاندیدایی برای تحریک ایمنی غیراختصاصی ماهی بهره جست.

سپاسگزاری

با تشکر و سپاس فراوان از دوست ارجمند مهندس پرسام علیزاده که صمیمانه مرا یاری رساند، سپاسگزاری می‌نمایم.

منابع

۱- علیشاهی، م.، ۱۳۸۳. نقش محرک‌های ایمنی در آبی‌پروری، مجله سازمان نظام دامپزشکی کشور، سال چهارم، شماره سوم، پاییز ۱۳۸۳، ص ۳۸-۳۳.

2. Abutbul, S., Golan-Goldhirsh, A., Barazani, O., and Zilberg, D., 2004. Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis sp.*). *Aquaculture*. 238, 97-105.
3. Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., and Razi Jalali, M., 2010. Effects of dietary *Aloe vera* on specific and nonspecific immunity of common carp (*Cyprinus carpio*). *J. Vet. Res.* 4 (3), 85-91.
4. Azza, M., and Abd-El-Rhman, M., 2009. Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by Propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Fish & Shellfish Immunology*, 27, 454-459.
5. Bagenal, T., 1978. Methods for assessment of fish production in fresh waters. Blackwall scientific pub. Oxf. London. 365p.
6. Beyraghdar Kashkooli, E., Dorcheh, E., Mahboobi-Soofiani, N., and Samie, A.H., 2011. Long-term effects of Propolis on serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 315-318.
7. Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein. *Annalytical Biochemistry*, 72, 248-254.
8. Chen, X., Wu, Z., Yin, Z., and Li, L., 2003. Effects of four species of herbs on immune function of *Carassius auratus gibelio*. *J. Fish Sci. China*. 10, 36-40.
9. Christyapita, D.M., Divyagnaneswari, and Dinakaran Michael, R., 2007. Oral administration of *Eclipta alba* leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 23, 840-852.

10. Cuesta, A., Rodr. A., Esteban, M.A., and Meseguer, J., 2005. In vivo effects of Propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses. *Fish Shellfish Immunol.* 18, 71-80.
11. Deng, J., An, Q., Bi, B., Wang, Q., Kong, L., Tao, L., and Zhang, X., 2011. Effect of ethanol extract of Propolis on growth performance and plasma biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry.* pp. 1-9.
12. Ellis, A.E., 1990. Lysozyme assay. In: Stolen, J.S., Fletcher, D.P., Anderson, B.S., and Robertson, B.S. (Eds.), *Techniques in Fish Immunology.* SOS Publication, Fair Haven, NJ, pp. 101-103.
13. Fernandes, F.F., Dias, A.L., Ramos, C.L., Ikegaki, M., de Siqueira, A.M., and Franco, M.C., The in vitro antifungal activity evaluation of Propolis G12 ethanol extract on *Cryptococcus neoformans*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2007, 49 (2), 93-5.
14. Gudmundsdóttir, B.K., and Magnadóttir, B., 1997. Protection of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) against an experimental infection of *Aeromonas salmonicida achromogenes*. *Fish and Shellfish Immunology.* 7, 55-69.
15. Iwama, G., and Nakanishi, T., 1996. The fish immune system. Academic Press, London. Chapter 3: innate Immunity in fish, pp. 73-114.
16. Jain, J., and Wu, Z., 2003. Effect of traditional Chinese medicine on non-specific immunity and disease resistance of large yellow croaker *Psedcosciaena crocea* (Richardson) *Aquaculture*, 218, 1-9.
17. Jain, J., and Wu, Z., 2004. Influences of traditional Chinese medicine on non-specific immunity of Jian Carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Fish and Shellfish Immunology.* 16, 185-191.
18. Kajita, Y., Sakai, M., Atsuta, S., and Kobayash, M., 1990. The immunomodulatory effects of levamisole on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Pathology.* 25, 93-98.
19. Kirpichnikov, V.S., 1972. Methods and effectiveness of Rop-sha carp breeding. *Immunication I. Breeding Aims, Orginal Forms and Cross System*, *Rus. J. Gen.* 8 (1), 65-72.
20. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
21. Misra, C.K., Das, B.K., and Mukherjee, S.C., 2009. Immune response, growth and survival of *Labeorohita* fingerlings fed with levamisole supplemented diets for longer duration. *Aquaculture Nutrition*, 15, 356-365.
22. Obach, A., Quentel, C., and Bandin, L.F., 1993. Effects of alpha-tocopherol and dietary oxidized fish oil on the immune response of sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Dis. Aquat. Org.* 15, 175-185.
23. Sakai, M., 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture.* 172, 63-92.
24. Schaperclaus, W., Kulow, H., and Schreckenbach, K., 1991. Hematological and serological technique. In: Kothekar VS, editor. *Fish disease.* 2nd ed. vol. 1. N, 56 Connaught circus, New Delhi: Gulab primlani, Oxonian press Pvt. Ltd. pp. 71-108.
25. Siwicki, A.K., Anderson, D.P., and Rumsey, G.L., 1994. Dietary intake of Immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology munopathology*, 41, 125-139.
26. Swain, P., Dash, S., Sahoo, P.K., Routray, P., Sahoo, S.K., Gupta, S.D., Meher, P.K., and Sarangi, N., 2007. Non-specific immune parameters of brood Indian major carp *Labeorohita* and their seasonal variations. *Fish & Shellfish Immunology*, 22, 38-43.
27. Tosi, B., Donini, A., Romagnoli, C., and Bruni, A., 1996. Antimicrobial activity of some commercial extracts of Propolis prepared with different solvents. *Phytother Res.* 10 (4), 335-6.
28. 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.



سرویس های
وبژه



سرویس ترجمه
تخصصی



کارگاه های
آموزشی



بلاگ
مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری
STES



فیلم های
آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی



مقاله نویسی علوم انسانی



اصول تنظیم قراردادها



آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله