بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد پنجم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۵
http://japu.gau.ac.ir

بررسی اثر فیتوبیوتیک‌های بومی بر پاسخ ایمنی ماهی‌ها و سخت‌پوستان

*رودابه روفچایی[۱]، علیرضا میرواقفی[۲] و وحیده عبداللهی[۳]

[۱]موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندر انزلی، ایران، [۲]استاد دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه تهران، تهران، [۳]مربی پژوهشی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۵/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۲۸

چکیده

تقاضای روزافزون جهانی غذا و پرورش آبزیان و محدودیت‌های ذخایر طبیعی آبزیان، رویکرد آبزی‌پروی را به سمت کشت متراکم و فوق متراکم سوق داده است. میزان آلایندگی آب در این سیستم‌ها بیشتر از سیستم‌های نیمه متراکم و باز بوده و میزان آلایندگی آب و احتمال بروز بیماری در آن‌ها بیشتر خواهد بود. با توجه به قوانین بین‌المللی در زمینه ممنوعیت مصرف و کاربرد آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری، اهمیت افزودنی‌های غذایی و مکمل‌های ایمنی بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از واکسن نیز به‌دلیل اختصاصی بودن عوامل بیماری‌زا و هزینه بالا، با محدودیت مواجه است. بررسی پژوهش‌های صورت گرفته نشان می‌دهد که استفاده از پروبیوتیک‌ها، پربیوتیک‌ها، سین بیوتیک‌ها و داروهای گیاهی از اقبال و موفقیت خوبی در کنترل عوامل بیماریزای آبزیان برخوردار بوده است. در این میان، گیاهان منابع ارزان‌تری برای درمان بیماری‌ها و حفظ محیط‌زیست بوده و در مقایسه با مواد شیمیایی عوارض جانبی کمتری دارند. بررسی حاضر به توصیف نقش گیاهان دارویی بومی کشور و اهمیت فرآورده‌های آن‌ها در بهبود عملکرد سیستم ایمنی ماهیان و سخت‌پوستان می‌پردازد.

واژه‌های کلیدی: فیتوبیوتیک، آبزی پروری، محرک ایمنی، گیاهان دارویی

*مسئول مکاتبه: roofchaie@gmail.com

مقدمه

در مقیاس جهانی، مقدار ماهی‌های صید شده در حدود ۹۰ میلیون تن ثابت مانده است درحالی که از طریق پرورش آبزیان مستقیماً حدوداً ٦۰ میلیون تن آبزی تولید می‌شود و این رقم هر ساله ۸ درصد افزایش پیدا می‌کند (رینگو و همکاران، ۲۰۱۲). به‌دلیل شیوه‌های پرورش متراکم، بیماری‌های عفونی مشکل عمده‌ای را در صنعت آبزی‌پروری ایجاد کرده است که منجر به تلفات سنگینی برای پروش‌دهندگان می‌شود. بدین روجهت پیشگیری از خسارت‌های اقتصادی و تأثیر نامطلوبی که احتمالاً شرایط محیطی بر ساختار فیزیولوژی ماهی وارد می‌سازد نیاز به مدیریت علمی، کنترل کیفی آب و جلوگیری از بروز بیماری‌ها و مقاومت در برابر آن‌ها از طریق تقویت مکانیسم دفاعی بدن امری ضروریست (گابور و همکاران، ۲۰۱۲).

شیمی‌درمانی به‌طور گسترده برای کنترل یا پیشگیری از بیماری‌های انگلی عفونی، باکتریایی و قارچی به‌کار می‌رود. چندین آنتی‌بیوتیک از جمله آموکسی‌سیلین، آنتروفلوکساسین، اریترومایسین، فورازولیدون و اکسی تتراسایکلین با موفقیت در کنترل بیماری‌های ماهیان و سخت‌پوست ماهیان استفاده شده‌اند (هاریکریشنان و همکاران، [1]۲۰۰۹، [1]۲۰۱۱). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و شیمی‌درمانی به‌عنوان اقدامات پیشگیرانه در سیستم آبزی‌پروری متراکم، به‌دلیل اثرات منفی آن‌ها مانند سرکوب سیستم ایمنی، توسعه پاتوژن‌های مقاوم و تجمع باقی‌مانده در بافت‌ها مورد انتقاد گسترده بوده است (هاریکریشنان و همکاران[2]، ۲۰۰۹). از این‌رو امروزه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها تنها به اهداف درمانی محدود شده و رویکردهای پیشگیرانه توسط مکمل‌های ایمنی در مدیریت بیماری ماهی، به درمان‌های پرهزینه پس از ابتلا آبزیان ترجیح داده می‌شود (هاریکریشنان و همکاران، [1]۲۰۱۱).

واکسیناسیون نیز شاید مؤثرترین اقدام پیشگیرانه در کنترل بیماری‌های ماهی‌ها و سخت‌پوستان باشد. اما واکسن‌ها نسبتاً گران و برای هر پاتوژن اختصاصی هستند و اکنون در برابر بسیاری از بیماری‌های باکتریایی و ویروسی مهم تجاری، مؤثر نیستند. بنابراین، برای برآوردن نیاز فوری صنعت آبزی‌پروری به جستجوی روش‌های جایگزین امن‌تر و ارزان‌تر برای کنترل بیماری‌ها نیاز داریم (هاریکریشنان و همکاران[1]، ۲۰۱۱).

عصاره‌های گیاهی، کاربرد بالقوه‌ای به‌عنوان محرک ایمنی در آبزی‌پروری دارند؛ بیشتر آن‌ها اغلب به‌صورت محلی در دسترس‌اند، ارزان‌اند، علیه طیف گسترده‌ای از پاتوژن‌ها عمل می‌کنند، زیست تخریب‌پذیری آسانی داشته و همیشه احتمال مصرف بیش از حد وجود دارد (یین و همکاران، ۲۰۰٦).

با توجه به تکامل بیشتر ایمنی غیراختصاصی ماهی نسبت به ایمنی اختصاصی و جایگاه ویژه محرک ایمنی بر تحریک ایمنی غیراختصاصی، استفاده از محرک‌های ایمنی برای آبزیان از ارجحیت بیشتری نسبت به حیوانات خونگرم برخوردار است (گابور و همکاران، ۲۰۱۰).

ایران با داشتن تنوع اقلیمی و قرار گرفتن در موقعیت جغرافیایی خاص و داشتن حدود هشت هزار گونه گیاهی از لحاظ نوع گونه و میزان ماده مؤثره میتواند از این ترکیبات شیمیایی گیاهی بهره‌برداری بالینی و دامی داشته باشد. از این‌رو با توجه به کثرت تحقیقات انجام شده در دنیا بر روی عصاره‌های گیاهی، جدول‌های ۱ و ۲ با تمرکز بر گونه‌های گیاهی موجود در کشور تهیه شده است، تا راهگشایی جهت ادامه تحقیقات بر روی اثر بخشی فیتوبیوتیک‌های بومی در مدیریت کنترل و پیشگیری بیماری‌های آبزیان پرورشی کشور باشد.

سیستم ایمنی آبزیان: سیستم ایمنی به سیستم‌های ایمنی ذاتی (غیراختصاصی) و اکتسابی (اختصاصی) تقسیم می‌شود.

سیستم ایمنی ذاتی: سیستم ایمنی ذاتی مهره‌داران، خط اول دفاع در برابر حمله پاتوژن‌ها است که توسط ساختار ژنتیکی تعیین می‌شود. اجزای اصلی سیستم ایمنی ذاتی سلولی شامل: ماکروفاژها، مونوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و عناصر هومورالی این سیستم شامل لیزوزیم یا سیستم کمپلمان هستند. این سیستم در ماهی‌ها و سخت‌پوست‌ها شامل فعال‌سازی نوتروفیل، تولید پراکسیداز (آنتی‌پروتئاز، ملوپروکسید از واکنش‌گر اکسیژن، گونه‌های واکنش‌گر نیتروژن فعالیت انفجار تنفسی، نیتریک اکسید گلوتاتیون پراکسیداز و فنل اکسیداز) و رادیکال‌های اکسیداتیو همراه با راه‌اندازی سایر عوامل التهابی است. فاگوسیتوز یکی از واسطه‌های اصلی ایمنی ذاتی برای پاتوژن در ماهی و سخت پوست است (رینگو و همکاران، ۲۰۱۲).

سیستم ایمنی اکتسابی: سیستم ایمنی اختصاصی است که آبزی را قادربه تشخیص مؤثرتر پاتوژن‌های اختصاصی کرده و حافظه ایمونولوژیک را ایجاد می‌کند. فعال‌سازی سیستم ایمنی اختصاصی نسبتاً کند است و به انتخاب گیرنده اختصاصی، تکثیر سلولی و سنتز پروتئین نیاز دارد اما از پایداری بالائی برخوردار است (رینگو و همکاران، ۲۰۱۲).

اجزای اصلی آن: آنتی‌بادی، لنفوسیت، هماگلوتیناسیون، نوتروفیل است.

مکانیزم‌های عملکرد محرک‌های ایمنی آبزیان

فعالیت فاگوسیتوزی: فاگوسیتوز فرایندی انرژی خواه است که برای بلعیدن ذرات بزرگ (با قطر ≤µm۰/۵) است. اولین مرحله فاگوسیتوز شناسایی میکروب از طریق گیرنده‌های ویژه‌ای مانند TLR[1]ها (گیرنده‌های سلولی) است که به میکروب‌ها متصل شده و با بلعیدن و ورود به داخل سلول فاگوزوم‌ها را تشکیل می‌دهد. سپس فاگوزوم‌ها با لیزوزوم‌هایی که حاوی پروتئازهای مختلف هستند ادغام می‌شوند و طی فرایندهای پروتئولیتیک کشته می (رینگو و همکاران، ۲۰۱۲).

ماکروفاژها: فعال‌سازی ماکروفاژ با پیوستن میکروب به سلول آغاز می‌شود و از طریق انتقال پیام‌هایی سلول را فعال می‌کنند تا میکروب‌های بلعیده شده را نابود کند. گیرنده‌های مسئول شناسایی میکروب شامل TLR، گیرنده‌های جفت شونده با پروتئین G، گیرنده‌های کمپلمان C3 و پادتن Fc و گیرنده سیتوکین‌ها، خصوصا IFN-y[2] می‌باشند. ماکروفاژهای فعال شده سیتوکین‌هایی مثل اینترلوکینها و تومورنکروز فاکتورها ترشح می‌کنند که موجب التهاب و سرآغاز فعالیت سیستم ایمنی اکتسابی می‌شوند (رینگو و همکاران، ۲۰۱۲).

فعالیت انفجار تنفسی (اکسایشی): انفجار تنفسی یا اکسایشی فرایند آزادسازی سریع گونه فعال اکسیژن ROS[3] مثل آنیون سوپراکسید، هیدروکسیل رادیکال و هیدروژن پروکسید از ماکروفاژهای فعال شده و نوتروفیل‌ها است. آزادسازی مولوکول‌های ROS، در حذف میکروب‌ها از بدن نقش مهمی بازی می‌کند. آنزیم فاگوسیت اکسیداز، که اکسیژن مولکولی را به ROS تبدیل می‌کند و معمولاً با فراورده‌های باکتریایی یا واسطه‌های التهابی فعال می‌شود. عمل انفجار تنفسی شاخصه وضعیت ماکروفاژ و فعالیت نوتروفیل است (رینگو و همکاران، ۲۰۱۲).

فسفاتاز اسیدی: فسفاتاز اسیدی یکی از هیدرولازهای لیزوزومی است که در فاگولیزوزوم ماکروفاژها وجود دارد. وقتی ماکروفاژ فعال می‌شوند داخل فاگوزوم آن‌ها اسیدی می‌شود. در محیط اسیدی هیدرولازهای لیزوزومی حاوی فسفاتاز اسیدی برای کشتن میکروب‌ها فعال می‌شوند. فعالیت فسفاتاز اسید نشان‌دهنده فعالیت ضدمیکروبی ماکروفاژها و غلظت بالای فسفاتاز اسیدی در خون نشانه آلودگی مزمن است (رینگو و همکاران، ۲۰۱۲).

1- Tool like receptoe
2- Interferon
3- Reactive oxygen species

عملکرد کمپلمان سرم: سیستم کمپلمان یکی از اصلی‌ترین مکانیزم‌های تأثیرگذار روی ایمنی ذاتی و اکتسابی است. فراورده‌های فعال‌سازی کمپلمان از طریق پیوند کووالانسی به میکروب‌ها، پادتن‌های پیوسته به میکروب‌ها و دیگر آنتی‌ژن‌ها متصل می‌شوند. اتصال فراورده‌های کمپلمان به مولکول‌های هدف موجب متلاشی شدن میکروب می‌شود (رینگو و همکاران، ۲۰۱۲).

فعالیت لیزوزیم: لیزوزیم آنزیمی کاتیونی است که به پیوند گلیکوسیدی بین ان- استیل‌مورامیک اسید و اناستیل‌گلوکزامین موجود در پپتیدوگلیکان دیواره‌های سلولی باکتریایی حمله می‌کند. این عمل باعث می‌شود که لیزوزیم باکتری‌های گرم مثبت مشخص و حتی برخی از باکتری‌های گرم منفی را تجزیه کند. فعالیت لیزوزیم در مخاط، سرم، اندام‌ها و تخم‌های گونه‌های متعدد ماهی‌شناسایی شده است. لیزوزیم بیشتر توسط ماکروفاژها تولید می‌شود و تولید آن در پاسخ به عناصر میکروبی مانند لیپوپلی ساکارید و بسیاری از دیگر محرک‌های ایمنی انجام می‌شود (رینگو و همکاران، ۲۰۱۲).

فعالیت فنول اکسیداز: فنول اکسیدازها در پاسخ ایمنی اولیه بی‌مهرگانی مثل میگوها و خرچنگ‌ها نقش دارند. فنول اکسیداز از تیروزیناز، کاتکولاز و لاکتاز تشکیل شده است. سیستم[1] PPO در خون بسیاری از بی‌مهرگان دریایی، خصوصاً سخت‌پوستان، وجود دارد. فنول اکسیداز در فعالیت باکتریایی و تقویت فاگوسیتوز سخت‌پوستان نقش دارد (رینگو و همکاران، ۲۰۱۲).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی یکی از خطوط مهم بدن مهره‌داران در مقابله با استرس اکسیداتیو می‌باشند. متعاقب مواجهه با شرایط آلوده و بیماریزا رادیکال‌های آزاد در پیکره آبزیان افزایش می‌یابند که در نهایت موجب ایجاد واکنش‌های اکسیداتیو می‌شود. در مقابل چنین تهدیداتی از سوی محیط، آبزیان نیز دارای مکانیسم‌هایی برای دفاع و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد هستند که از آن‌ها تحت عنوان آنزیم‌های اختصاصی دفاع آنتی‌اکسیدانی نام برده می‌شوند. از جمله این عوامل آنتی‌اکسیدانی درون سلولی می‌توان به سوپراکساید دیسموتاز[2] SOD، کاتالاز[3] CAT، گلوتاتیون پراکسیداز[4] GPX، گلوتاتیون ردوکتاز[5] GR، گلوتاتیون-S- ترانسفراز[6] GST، گلوتاتیون ٦ فسفات دهیدروژناز[7] G6PD- اشاره کرد (شریفی و همکاران، ۲۰۱۳).

1- Polyphenol oxidase
2- Superoxide dismutase
3- Catalase
4- Glutathione peroxidase
5- Glutathione reductase
6- Glutathion S transferase
7- Glutathione dehydrogenase

تأثیر فیتوبیوتیک‌های بر سیستم ایمنی آبزیان: همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است (قهرمان، ۱۳۷۷، ۱۳۸۳، ۱۳۸۷) قسمت‌های مختلف گیاهان می‌توانند با اضافه شدن به غذای آبزیان یا در برخی موارد تزریق و غوطه‌وری در این عصاره‌ها سیستم ایمنی را افزایش دهند. عصاره برگ انار (*Punica granatum*) به میزان ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پس از طی ۸ هفته تغذیه کفشک ماهی (*Paralichthys olivaceus*) به وضوح فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی را افزایش داده باعث افزایش معنی‌دار مقاومت این ماهی در برابر عامل ویروسی لمفوییدی[1] LDV شد (هاریکریشنان و همکارن، ۲۰۱۰). عصاره لیوفلیزه برگ و تنه درواش (*Viscum album*) در غلظت‌های ۱۰، ۲۰۰، ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌مدت ۸۰ روز در تغذیه ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) مورد مصرف قرار گرفت که به‌طور معنی‌داری فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی را افزایش داده و پس از ۱۰ روز روز چالش با عامل باکتریایی (*A. hydrophila*) (۲×۱۰^{۵} (CFU $fish^{-1}$)، تیمار تغذیه شده با میزان ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از عصاره این گیاه با ۸۳ درصد بقا در برابر تیمار شاهد با ٤۲ درصد، بیشترین درصد بازماندگی را نشان دادند (پارک و چوی، ۲۰۱۲). همچنین اضافه کردن پودر هسته انبه (*Magnifera indica*) به میزان ۱۰، ۵، ۱ گرم بر کیلوگرم به‌جای سبوس برنج در جیره غذایی (*Labeo rohita*)، پس از ٦۰ روز موجب افزایش معنی‌دار فاکتورهای ایمنی، بیوشیمایی سرم خون نسبت به تیمار شاهد شده و درصد بازماندگی ماهیان در تیمار ۵ گرم بر کیلوگرم در برابر عامل باکتریایی (*A. hydrophila*) پس از ۱۰ روز به‌طور معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد با حدود ۹۸ درصد، بالاتر بود (سابو و همکاران، ۲۰۰۷). گیاه تاج‌ریزی (*Solanum nigrum*) که از پراکنش خوبی در کشور برخوردار است (قهرمان، ۱۹۹۸) نیز دارای پتانسیل بسیار خوبی جهت استفاده به‌عنوان محرک ایمنی در آبزی پروریست به‌طوری که اسپری عصاره این گیاه با غلظت ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ درصد به غذای پایه میگوی ببری (*Penaeus monodon*) باعث افزایش فاکتور ایمنی غیراختصاصی و مقاومت میگوها در برابر عامل باکتریایی (*Vibrio harveyi*) پس از ٤ هفته تغذیه شد (پارک و چوی، ۲۰۱۲).

بررسی جلبک‌ها نیز همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است حاکی از تأثیر جلبک‌های قهوه‌ای و قرمز بر ایمنی آبزیان می‌باشد. به‌طوری که میگوی سفید (*Litopenaeus vannamei*) در حالت غوطه‌وری و تزریق عصاره آبی- گرم جلبک قهوه‌ای سارگوسوم (*Sargassum duplicatum*)،

1- Lymphocystis disease virus

هموست کل، فعالیت فنل اکسیداز، انفجار تنفسی به‌طور معنی‌داری افزایش یافته و درصد بقای میگوها پس از چالش با عامل بیماری (*Vibrio alginolyticus*) به‌طور معنی‌داری افزایش داشت (یه و همکاران، ۲۰۰٦). مشابه چنین نتایجی با جلبک فرمز (*Gelidium amansii*) نیز به‌دست آمده است (یه و همکاران، ۲۰۰٦). ریشه گیاه پنیر باد (*Withania somnifera*) و دانه گیاه تاج خروس (*Achyranthes aspera*) هم که در استان سیستان و بلوچستان به فراوانی دیده می‌شود به‌طور معنی‌داری فاکتورهای ایمنی کپور هندی (*L. rohita*) را افزایش داده‌اند. و میزان درصد بقا این ماهی پس از چالش با عامل بیماریزای (*A. hydrophila*) نیز افزایش معنی‌داری را نشان داد (رائو و همکاران، ۲۰۰٦؛ شارما و همکارن، ۲۰۱۰).

تزریق صفاقی ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره آبی برگ پیچک تینوسپورا (*Tinospora cordifolia*) باعث افزایش فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی تیلاپیا (*O. mossambicus*) شده و درصد بازماندگی این آبزی را پس از ٦ روز چالش با ۸۰ درصد دز کشنده عامل بیماری *A. hydrophila* را، به‌طور معنی‌داری افزایش داده است الکساندر و همکاران، ۲۰۱۰).

در بررسی مقایسه‌ای عصاره آبی لیوفیلیز شده سه گیاه دارویی درواش، زنجبیل و گزنه دردو غلظت ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر، هر سه گیاه فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی چون فاگوسیتوزیس و انفجار تنفسی را افزایش داد اما این اختلاف در تیمار زنجبیل ۱ درصد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (دوگنسی و همکارن، ۲۰۰۳).

توانایی افزایش تأثیر فایتو بیتیک‌ها بر ایمنی آبزیان به‌خاطر وجود ترکیبات شیمیایی یا مواد مؤثره موجود در آن‌هاست. گروه اصلی این مواد عبارتند از آلکالوئیدها، فلاوونوئیدها، نگدانه‌ها، فنل‌ها، ترپنوئیدها، استروئیدها و روغن‌های ضروری که وجودشان در محصولات گیاهی طبیعی اثبات شده است (هاریکشنان و همکاران،[1] ۲۰۰۱). از این بین مواد فنلی، پلی‌ساکاریدها، پروتئوگلیکان‌ها و فلاونوئیدها نقش عمده‌ای در کنترل میکروب‌های عفونی دارند (سیتاراسو، ۲۰۱۰). ترکیبات گیاهی، توانایی مهار تولید آنیون‌های اکسیژن و جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد را دارند. گروهی از مواد مؤثره محرک ایمنی در جدول ۲ گردآوری شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود ترکیبات فعال گیاهی و محصولات مختلف گیاهان مانند هیدروکربن‌های آروماتیک (آنتراکوئینون)، روغن ضروری (تیمول)، محصولات تخمیر گیاهی، پلی‌ساکاریدها، ساپونین، تریپنوئید (کامفور، سینئول)، فلاونوئید (سینام آلدئید)، فنل (کلرژنیک، وانیلیک، کوماریک) و اسیدهای فنلیک (گالیک اسید، کلرژنیک اسید، کومارین) طی بررسی‌های صورت گرفته بر روی آبزیان باعث افزایش فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی

و بعضاً اختصاصی گردیده است (ریورت و همکاران، ۲۰۱٤؛ هاریکشنان و همکاران،[1] ۲۰۱۱؛ گالین و همکاران، ۲۰۰۹).

البته باید در نظر داشت که منطقه کشت گیاه، زمان برداشت و مطابقت گیاه مورد استفاده با سایر اقلام غذایی بر کارائی تغذیه‌ای فیتوبیوتیک مصرفی و تأثیر ترکیبات شیمیایی گیاهی مؤثر است که به این موارد می‌توان روش عصاره‌گیری و زمان استفاده در چرخه زیستی آبزی را نیز اضافه کرد (تانیگیول و همکاران،[1] ۲۰۱۵).

برخلاف واکسن‌ها، محرک‌های ایمنی موجب تقویت پاسخ ایمنی ذاتی می‌شوند (ساکای و همکاران، ۲۰۰۹؛ گالیوتی، ۱۹۹۸). آن‌ها اجزای مختلف سیستم ایمنی مانند فاگوسیت‌ها، سلول‌های کشنده طبیعی، لنفوسیت‌های T، لنفوسیت‌های B، کمپلمان و لیزوزیم را فعال می‌کنند (اندرسون، ۱۹۹۲).

مواد شیمیایی گیاهی با مکانیسم‌های مختلف سیستم ایمنی غیراختصاصی را فعال می‌کنند. این محرک‌های، می‌توانند موجب فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاع ذاتی و تولید ملکول‌های ضد میکروبی شوند. به‌طوری که با تحریک گیرنده‌ها سطح سلولی، فعال‌سازی داخل سلولی و تحریک ژن‌ها را منجر شده که به تولید مولکول‌های ضد میکروبی منهی می‌گردد (بریکنل و دالمو، ۲۰۰۵). همان‌طور که نتایج بررسی‌های انجام شده بیان می‌کند، این مسیر در ادامه باعث افزایش اجزای مختلف سیستم ایمنی مانند: فعالیت فاگوسیتوزی، فعالیت‌های مکمل کمپلمانی و لیزوزیم و مقاومت در برابر بیماری و در نهایت سطح Ig[1] سرمی می‌گردد. محرک‌های ایمنی حاصل از گیاهان دارویی با تقویت مکانیسم‌های دفاعی اختصاصی و غیراختصاصی، مقاومت در برابر بیماری‌ها را افزایش می‌دهند.

(چاکرابارتی و رائو، ۲۰۰٦؛ لوگامبال و میشل، ۲۰۰۱). استفاده از محرک‌های ایمنی گیاهی در ترکیب با واکسن برای ماهیان نیز روشی نو برای افزایش قابلیت‌های محافظتی ماهی است که می‌توان با تقویت ظرفیت دوزهای کمتر واکسن عملکرد آن را بهبود بخشد و به‌منجر به افزایش تعداد فاگوسیت‌ها و لیزوزیم و فعالیت‌های مکمل کمپلمان و سطح Ig شود (هاریکریشنان و همکاران، [1]۲۰۱۱).

محرک‌های ایمنی طبیعی در بین محرک‌های ایمنی مورد مصرف زیست تخریب‌پذیر و مقرون به صرفه هستند (ارتونو و همکاران، ۲۰۰۲). از این‌رو بهره‌برداری از فیتوبیوتیک‌های بومی با توجه به تنوع گونه‌های مقاوم گیاهان دارویی در کشور جایگزین مناسبی برای محرک‌های ایمنی وارداتی و شیمیایی است.

1- Immunoglobulin

جدول ۱- فیتوبیوتیک‌های مؤثر بر ایمنی ابزی.

نام علمی	نام فارسی	پراکنش	قسمت	روش بررسی	ماهی	افزایش	پاتوژن	منابع
Gelidium amansii	جلبک قرمز	گونه *G. pusillum* در جزیره قشم	برگ	تغذیه غوطه‌وری و تزریق	*L. vannamei*	فنلوپراکسیداز فاگوسیتوزیس تنفس سلولی سوپر اکسید دسموتاز	*Vibrio alginolyticus*	فیو و همکارن، ۲۰۰۷ ربیعی و همکاران، ۲۰۰۵
Sargassum duplicatum	جلبک قهوه‌ای	گونه *S.Angustifolium*	برگ	غوطه‌وری و تزریق	*L. vannamei*		*V. alginolyticus*	یه و همکاران، ۲۰۰۶ دشتیان نسب و همکاران، ۲۰۱۴
Echhornia crassipes	سنبل آبی	گیاه مهاجم تالاب انزلی و تالاب عینک	برگ	خوراکی	*Macrobrachium rosenbergii*	تنفس سلولی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی فاگوسیتوزیس سلول‌های خونی	*Lactococcus garvieae*	چنگ و همکاران، ۲۰۱۳
Padina gymnospora	جلبک قهوه‌ای	بندرلنگه	عصاره (اسکوآلن)	غوطه‌وری	*O. mossambicus*	فنلوپراکسیداز فاگوسیتوزیس تنفس سلولی	*Pseudomonas aeruginosa*	تانیگبول و همکارن، ۲۰۱۵[۲]
Tinospora cordifolia	پیچک تینوسپورا	از سال ۱۳۴۵ در ایران کشت شد	برگ	تزریق	*O. mossambicus*	میلوپراکسیداز نیتروژن و اکسیژن فعال لیزوزیم کمپلمان.آنتی پروتئاز	*A. hydrophila*	آلکساندر و همکاران، ۲۰۱۰
Magnifera indica	انبه	بلوچستان و هرمزگان	هسته	خوراکی	*L. rohita*	باکتریسیدال سوپر اکسیددسموتاز لیزوزیم- آلبومین	*A. hydrophila*	ساهو و همکارن، ۲۰۰۷
punica ranatum	انار	بومی ایران سایر کشورها جهت کشت از ایران برده شده	برگ	خوراکی	*Paralichthys olivaceus*	تنفس سلولی- لیزوزیم کمپلمان فاگوسیتوزیس	*LDV Virus*	هاریکشنان و همکاران، ۲۰۱۰
Solanum nigrum	تاج ریزی	نقاط مختلف ایران	برگ	خوراکی	*Penaeus monodon*	هموسیت کل- یزوزیم فاگوسیتوزیس آنزیم آنتی‌اکسیدانی	*Vibrio harveyi*	هاریکشنان و همکاران ۲۰۱۱[۲]
Achyranthes aspera	از تیره تاج خروس	بلوچستان	دانه	خوراکی	*L. rohita*	هموگلوتینیشن لیزوزیم باکتریسیدال	*A. hydrophila*	رائو و همکارن، ۲۰۰۶

ادامه جدول (۱)

Withania somnifera	پنیر باد	بلوچستان و هرمزگان	ریشه	خوراکی	*L. rohita*	لیزوزیم تنفس سلولی ایمونوگلبولین	*A. hydrophila*	شارما و همکاران، ۲۰۱۰
Viscum album	داروواش	جنگل‌های شمال ایران	برگ، تنه و میوه	خوراکی	*Oreochromis niloticus*	لیزوزیم تنفس سلولی کمپلمان فاگوسیتوزیس	*A. hydrophila*	پارک و چوی، ۲۰۱۲
Zingiber officinale *Urtica dioica* *Viscum album*	زنجبیل گزنه دوپایه داروواش	خلیج فارس نواحی مرطوب نواحی شمال	برگ	خوراکی	*O. mykiss*	تنفس سلولی فاگوسیتوزیس	--	دوگنسی و همکاران، ۲۰۰۳
Mentha longifolia *+Satureja* *bachtiarica*	پونه کوهستانی مرزه بختیاری	استان چهار محال و بختیاری	برگ	خوراکی	*O. mykiss*	لنفوسیت ایمونوگلبولین هتروفیل	*Streptococcus iniae*	قاسمی پیر بلوطی و همکاران،[1] ۲۰۱۱[2]
Echinacea purpurea	سرخار گل	از سال ۱۳۷۳ در ایران کشت شد	ریشه و اندام هوایی	خوراکی	*O. mykiss*	لایزوزیم گلبول سفید (نوتروفیل) C3 (اجزای کمپلمان)	*Streptococcus iniae*	پور غلام و همکاران، ۲۰۱۳
Mubylis munairam	خار مریم (مارتیغال)	خودرو در شمال، مغرب و جنوب ایران	کل گیاه	خوراکی	*Cyprinus carpio*	لایزوزیم ایمونوگلبولین کل هماتوکریت گلبول سفید	*A. hydrophila*	علیشاهی و همکاران، ۲۰۱۱
Viscum Album	داروواش	جنگل‌های شمال ایران و کردستان اغلب روی درختان جنگلی	کل گیاه	خوراکی	*Carassius auratus*	-	*A. hydrophila*	علیشاهی و مصباح، ۲۰۱۲
Aloe vera	صبر زرد	هرمزگان و سیستان و بلوچستان	برگ	خوراکی	*Cyprinus carpio*	ایمونوگلبولین لیزوزیم سیستم کمپلیمان گلبول سفید	*A. hydrophila*	علیشاهی و همکاران، ۲۰۱۰
Allium cepa	پیاز	تمام ایران	ریشه	خوراکی	*Huso huso*	آنزیم آنتی‌اکسیدانی تنفس سلولی ایمونوگلبولین کل گلبول سفید	-	اکرمی و همکاران، ۲۰۱۵
Camellia sinensis	چای سبز	شمال ایران	برگ	خوراکی	*O. mykiss*	هموگلوتینیشن لیزوزیم آنتی‌پروتئاز	*Yersinia ruckeri*	شیخ‌زاده و همکاران، ۲۰۱۱

جدول ۲- ماده مؤثره فیتوبیوتیک‌های بررسی شده جهت افزایش ایمنی.

ماده مؤثره ترکیب گیاهی	گیاه	نام فارسی	گونه آبزی	افزایش	پاتوژن	منابع
Anthraquinon	*Rheum officinale*	ریواس یا ریوند چینی	*M. rosenbergii*	تنفس سلولی لیزوزیم آلکالین فسفاتاز پروتئین همولنف	*Aphanomyces invadans*	لیو و همکاران، ۲۰۱۰
azadirachtin + camphor + curcumin	*Azadirachta indica +Ocimum sanctum +Curcuma longa*	چریش + ریحان مقدس+ زردجوبه	*C.mrigala*	تنفس سلولی لیزوزیم گلبول سفید	*A. hydrophila*	هاریکشنان و همکاران،[۲] ۲۰۰۹
Essential Oil (Thymol)	*zataria multiflora*	آویشن شیرازی	*Cyprinus carpio*	لیزوزیم گلبول سفید ابومین و گلبولین	*Vibrio harveyi*	سلطانی و همکاران، ۲۰۱۰
polysaccharide	Sargassum fusiforme	جلبک قهوه‌ای	*Fenneropenaeus chinensis*	گلبول قرمز فنل اکسیداز سوپر اکسید دسموتاز	*Vibrio alginolyticus*	هوآنگ و همکاران، ۲۰۰۶
Allicin	*Allium sativum*	سیر	*O. mykiss*	آنتی‌بادی لیزوزیم فاگوسیتوزیس	*A. hydrophila*	نیا و اوستین، ۲۰۰۹
Cineol	*Rosmarinus officinalis*	رزماری	*Oreochromis sp*	لیزوزیم فاگوسیتوزی	*Streptococcus iniae*	ابوتبول و همکاران، ۲۰۰۴
Cinnamaldehyde	*Cinnamomum zeylanicum*	دارچین	*O. niloticus*	تنفس سلولی لیزوزیم فاگوسیتوزیس	*Vibrio anguillarum*	راتاناچایکونسپون و فومخاچورن، ۲۰۱۰
saponin	*Quillaja saponaria*	ساپوناریا	*Litopenaeus Vannamei*	گلبول قرمز تنفس سلولی فنل اکسیداز	*Streptococcus agalactiae*	سو و چن، ۲۰۰۸

منابع

1. Abutbul, S., Golan-Goldhirsh, A., Brazani, O., and Zilberg, D. 2004. Use of (*Rosmarinus officinalis*) as a treatment against (*Streptococcus iniae*) in tilapia (*Oreochromis sp*.). Aquaculture, 238: 97–105.
2. Akrami, R., Gharaei, A., Mansour, M.R., and Galeshi, A. 2015. Effects of dietary onion (*Allium cepa*) powder on growth, innate immune response and hemato–biochemical parameters of beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1754) juvenile. Fish and shellfish immunology, 45, 2: 828-834.

3.Alexander, C.P., Kirubakaran, C.J.W., and Michael, R.D. 2010. Water soluble fraction of (*Tinospora cordifolia*) leaves enhanced the non-specific immune mechanisms and disease resistance in (*Oreochromis mossambicus*). Fish Shellfish Immunology, 29: 765–772.
4.Alishahi, M., Ranjbar, M., Ghorbanpoor, M., Peyghan, R., and Mesbah, M. 2010. Effects of dietary (*Aloe vera*) on some specific and nonspecific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). Iranian Journal of Veterinary Medicine, 4, 3: 63-67.
5.Alishahi, M., Soltani, M., Mesbah, M., and Esmaeilli Rad, A. 2011. Effects of dietary *Silibum marianum* extracton immune parameters of the common carp (*cyprinus carpio*). Journal veterinary research, 66, 3: 255-263.
6.Alishahi, M., and Mesbah, M. 2012. Effects of (*Viscum album*) and (*Nigella sativa*) extracts on survival rate, growth factors and resistance to (*Aeromonas hydrophila*) infection in gold fish (*Carassius auratus*). Journal veterinary research, 67, 3: 285-290.
7.Anderson, D.P. 1992. Immunostimulants, adjuvants and vaccine carriers in fish:application to aquaculture. In: Faisal, M., Hetrick, F.M. (Eds.), Annual Review of Fish Diseases. Pergamon Press, New York, Pp: 281–307. Aquaculture, 238: 97–105.
8.Bricknell, I., and Dalmo, R.A. 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture.Fish and Shellfish Immunology, 19: 457–472.
9.Chakrabarti, R., and Rao, Y.V. 2006. Achyranthes aspera stimulates the immunity and enhances the antigen clearance in (*Catla catla*). International Immunopharmacol, 6: 782–790.
10.Chang, C.C., Tan, H.C., and Cheng, W. 2013. Effects of dietary administration of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) extracts on the immune responses and disease resistance of giant freshwater prawn, (*Macrobrachium rosenbergii*). Fish and Shellfish Immunology, 35: 92-100.
11.Citarasu, T. 2010. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. Aquaculture International, 18, 3: 403-414.
12.Dashtiannasab, A., Mesbah, M., Peyghan, R., and Kakoolaki, S. 2014. The effects of brown algae (*Sargassum angustifolium*) extract on growth performance, survival and Vibriosis resistance in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Iranian Scientific fisheries Journal, 23, 3: 31-41.
13.Dugenci, S.K., Arda, N., and Candan, A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. Journal of Ethnopharmacol, 88: 99–106.
14.Fu, Y.W., Hou, W.Y., Yeh, S.T., Li, C.H., and Chen, J.C. 2007. The immunostimulatory effects of hot-water extract of (*Gelidium amansii*) via immersion, injection and dietary. Vibrio alginolyticus. Fish and Shellfish Immunology, 22: 673–685.

15.Gabor, E.F., Ichm, O., and Suteu, M. 2012. Phyto additives in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) nutrition.Biharean biologist, 6, 2: 134-139.
16.Gabor, E.F., Sara, A., and Barbu, A. 2010. The effects of some phyto-additives on growth, health and meat quality on different species of fish. Scientific paprs: Animal Sciences and biotechnologies, 43, 1: 61-65.
17.Galeotti, M. 1998. Some aspects of the application of immunostimulants and a critical review of methods for their evaluation. Journal Applied Ichtiology, 14: 189–199.
18.Galina, J., Yin, E.G., Ard, E.L., and Jeney, E.Z. 2009. The use of immunostimulating herbs in fish. An overview. Fish Physiology and Biochemestry, 35: 669–676.
19.Ghahreman, A. 1998. Plant systematics cormophytes of Iran, vol second, second edition,Tehran university press, 842p.
20.Ghahreman, A[1], 2008. Plant systematics cormophytes of Iran, vol thired, second edition,Tehran university press, 768p.
21.Ghahreman, A[2], 2008. Plant systematics cormophytes of Iran, vol fourth, second edition,Tehran university press, 618p.
22.Ghahraman, A[3], 1984. Iran colored flora. Publication of forests and rangelands of Iran, 125p.
23.Ghasemi Pirbalouti, A., Pirali, A., Pishkar, GH., Jalali, M.A., Raiesi, M., Jafaran, M., and Hamedi, B. 2011[1]. Effect of several plant essential oils antimicrobial immune system trout Rainbow (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Herbal Drugs, 2, 2: 149-155.
24.Ghasemi Pirbalouti, A., Nikobin broujeni, V., Momeni, M., Malekpoor, F., Hamedi, B. 2011[2]. Antibacterial activity of Iranian medicinal plants against (*Streptococcus iniae*) isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Archives of Biological Sciences, 63, 1: 59-66.
25.Harikrishnan, R., Balasundaram, C., and Heo, M. 2011[1]. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. (Review). Aquaculture, 317: 1–15.
26.Harikrishnan, R[2]., Balasundaram, C., Jawaharc, S., and Heo, M. 2011[2]. (*Solanum nigrum*) enhancement of the immune response and disease resistance of tiger shrimp, (*Penaeus monodon*) against (*Vibrio harveyi*) .Aquaculture, 318, (1–2): 67–73.
27.Harikrishnan, R., Heo, J., Balasundaram, C., Kim, M.C., Kim, S.J., Han, Y.J., Heo, M.S. 2010. Effect of (*Punica granatum*) solvent extracts on immune system and disease resistance in (*Paralichthys olivaceus*) against lymphocystis disease virus (LDV). Fish and Shellfish Immunology, 29: 668–673.
28.Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Dharaneedharan, S., Moon, Y.G., Kim, M.C., Kim, J.S., and Heo, M.S. 2009[1]. Effect of plant active compounds on immune response and disease resistance in (*Cirrhina mrigala*). infected with

fungal fish pathogen, (*Aphanomyces invadans*). Aquaculture Research, 40: 1170–1181.

29. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Kim, M.C., Kim, J.S., Han, Y.J., Heo, M.S. 2009[2]. Innate immune response and disease resistance in (*Carassius auratus*) by triherbal solvent extracts.Fish and Shellfish Immunology, 27: 508–515.
30. Huang, X., Zhou, H., and Zhang, H. 2006. The effect of (*Sargassum fusiforme*) polysaccharide extracts on vibriosis resistance and immune activity of the shrimp, (*Fenneropenaeus chinensis*). Fish and Shellfish Immunology, 20: 750–757.
31. Liu, X.L., Xi, Q.Y., Yang, L., Li, H.Y., Jiang, Q.Y., Shu, G., Wang, S.B., Gao, P., Zhu, X.T., and Zhang, Y.L. 2010. The effect of dietary (*Panax ginseng*) polysaccharide extract on the immune responses in white shrimp, (*Litopenaeus vannamei*). Fish and Shellfish Immunology, 1–6.
32. Logambal, S.M., Michael, R.D. 2001. Azadirachtin- an immunostimulant for *Oreochromis mossambicus* (Peters). Journal of Aquaculture in the Tropics, 16: 339–347.
33. Nya, E.J., and Austin, B. 2009. Use of garlic, Allium sativum, to control (*Aeromonas hydrophila*) infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal Fish Disease, 32: 963–970.
34. Ortuno, J., Cuesta, A., Rodriguez, A., Esteban, M.A., Meseguer, J. 2002. Oral administration of yeast, (*Saccharomyces cerevisiae*), enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Veterinary Immunology and Immunopathology, 85: 1–50.
35. Park KH., and Choi, S.H. 2012. The effect of mistletoe, (*Viscum album*) coloratum, extract on innate immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish and Shellfish Immunology, 32, 6: 1016-1021.
36. Pourgholam, R., Sharif Rohani, M., Safari, R., Saeeidi, A.A., Binaeei, M., Najafeyan, R., Bankehsaz, Z., Taghavi, M.J., and Sepahdari, A. 2013. Effect of (*Echinacea purpurea*) extract on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and its resistance to Streptococcusis. Iranian Scientific Fisheries Journal, 22, 3: 1-12.
37. Rabiei, R., Asady, M., Tahernejad, S., Majd, A., and Sohrabipor, J. 2005. The study of species diversity in association of (*Gracilaria salicornia*) in northeast of Qeshm island. Research and Construction journal, 66, 3: 85-92.
38. Rao, Y.V., Das, B.K., Jyotyrmayee, P., Chakrabarti, R. 2006. Effect of (*Achyranthes aspera*) on the immunity and survival of (*Labeo rohita*) infected with (*Aeromonas hydrophila*). Fish and Shellfish Immunology, 20: 263–273.
39. Rattanachaikunsopon, P., and humkhachorn, P. 2010. Potential of cinnamon (*Cinnamomum verum*) oil to control (*Streptococcus iniae*) infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fishery Science, 76: 287–293.

40.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.
41.Ringø, R., Rolf Erik Olsen, Jose L. Gonzalez Vecino, Simon Wadsworth and Seong Kyu Song. 2012. Use of immunostimulants and nucleotides in aquaculture: a review. Journal of Marine Science Research and Development, 2, 1: 1-22.
42.Sahu, S., Das, B.K., Mishra, B.K., Pradhan, J., and Sarangi, N. 2007. Effect of (*Magnifera indica*) kernel as a feed additive on immunity and resistance to (*Aeromonas hydrophila*) in (*Labeo rohit*a) fingerlings. Fish and Shellfish Immunology. 23(1): 109-118.
43.Sakai, M., Kobayashi, M., and Kawauchi, H. 1996. Mitogenic effect of growth hormone and prolactin on chum salmon (*Oncorhynchus keta*) leukocytes in vitro. Veterinary Immunology, 53, 1: 185-189.
44.Sharma, A., Deo, A.D., Riteshkumar, S.T., Chanu, T.I., and Das, A. 2010. Effect of *Withania somnifera* (L. Dunal) root as a feed additive on immunological parameters and disease resistance to (*Aeromonas hydrophila*) in (*Labeo rohita*) (Hamilton) fingerlings. Fish and Shellfish Immunology, 29: 508–512.
45.Sheikhzadeh, N., Nofouzi, K., Delazar, A., and Oushani, A.K. 2011. Immunomodulatory effects of decaffeinated green tea (*Camellia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and shellfish immunology, 31, 6: 1268-1269.
46.Su, B.K., and Chen, J.C. 2008. Effect of saponin immersion on enhancement of the immune response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. Fish and Shellfish Immunology, 24: 74–81.
47.Sharifi, S., Salati, A., Asadian, P., Gourjipour, A., and Moradian, H. 2013. Alterations to antioxidative enzymes in early life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared in different densities Journal of Veterinary Research, 68, 4: 395-389.
48.Thanigaivel, S., Hindu Vidhya, S., Vijayakumar, S., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N., and Thomas, J. 2015[1]. Differential solvent extraction of two seaweeds and their efficacy in controlling (*Aeromonas salmonicida*) infection in (*Oreochromis mossambicus*) a novel therapeutic approach. Aquaculture, 433: 56–64.
49.Thanigaivel, S., Natarajan Chandrasekaran, Amitava Mukherjee, John Thomas .2015[2] .Investigation of seaweed extracts as a source of treatment against bacterial fish pathogen. Aquaculture, 448: 82–86.
50.Yeh, S.T., Lee, C.S., Chen, J.C. 2006. Administration of hot-water extract of brown seaweed (*Sargassum duplicatum*) via immersion and injection enhances

the immune resistance of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Fish and Shellfish Immunology, 20: 332–345.

51. 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.