



## گیاهان دارویی به عنوان کمک ایمنی‌های امیدوار کننده برای واکسن‌های ماهیان

مهدی سلطانی<sup>1\*</sup>، روژین فرشگر<sup>2</sup>.

1- مهدی سلطانی گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران msoltani@ut.ac.ir

2- روژین فرشگر دانش آموخته دکتری دامپزشکی دانشگاه رازی کرمانشاه rozhinfarshgar3000@gmail.com

### خلاصه

علی‌رغم مطالعات متنوع پیرامون اثرات درمانی گیاهان دارویی علیه بیماری‌های عفونی ماهیان، بیشتر این مطالعات به اثرات پاراکلینیکی پرداخته و مکانیسم‌های دقیق مواد موثره گیاهان دارویی بر روی اعمال ایمونوفیزیولوژیک ماهیان کمتر مورد توجه قرار گرفته است. با این حال نقش برخی از گیاهان دارویی در تنظیم سیستم ایمنی (محرك ایمنی و یا سرکوب ایمنی) در ماهیان پرورشی به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است به گونه ایی امروزه کاربرد برخی گیاهان دارویی بر اعمال ایمونولوژیک مانند فاگوسیتوز، عامل مکمل، تحریک جمعیت لکوسیتی (نوتروفیلی و لنفوسیتوز) مورد توجه محققان قرار گرفته است. گیاهان دارویی به عنوان لیگاند‌هایی برای گیرنده‌های TLR عمل کرده و از این طریق موجب پاسخ‌های ایمنی متنوعی به واسطه گیرنده‌های TLR می‌شوند که بسته به نوع گیاهان دارویی و مواد موثره آن‌ها قدرت این پاسخ‌های ایمنی متفاوت است. برخی گیاهان دارویی موجب بروز پاسخ‌های قبل‌التهابی می‌شوند در حالی که برخی دیگر از گیاهان دارویی موجب بروز پاسخ‌های ضدالتهابی در جانور می‌شوند. طی چند سال اخیر مطالعاتی هر چند اندک بر روی برخی گیاهان دارویی به عنوان مواد کمک ایمنی (ادجوانت) واکسن‌های ماهیان انجام گرفته و نتایج حاصله امیدوارکننده بوده است. در این مقاله یافته‌های علمی حاصل از نقش کمک ایمنی گیاهان دارویی برای واکسن‌های ماهیان مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرد.

**کلمات کلیدی:** واکسن‌های ماهیان - تنظیم ایمنی - محرك ایمنی - سرکوب ایمنی - ادجوانت - ایمونولوژی.



## 1. مقدمه

صنعت آبی‌پروری در سال‌های اخیر به دلیل افزایش تقاضای پروتئین‌های حیوانی رشد چشمگیری داشته است. بنابراین، پرورش ماهی که قبلاً به صورت نیمه متراکم صورت می‌گرفت امروزه به یک سیستم پرورش متراکم‌تر تبدیل شده است. پرورش ماهی به صورت متراکم باعث ایجاد یک محیط پرسترس می‌شود. علاوه بر این، روش‌های جدید پرورش حیوانات آبی به صورت آکواپونیک، بیوفلوک و سیستم‌های میکسوتروف حیوانات را مستعد عوامل بیماری‌زا می‌کند. این شرایط محیطی استرس‌زا به نوبه خود حساسیت ماهی را به عفونت افزایش می‌دهد [1]. امروزه آنتی‌بیوتیک‌های متعددی برای غلبه بر این بیماری‌ها استفاده می‌شود. از آنجایی که این داروهای شیمیایی می‌توانند در بافت‌های حیوانی تجمع پیدا کنند، امکان بروز مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به طور قابل توجهی افزایش یافته است [2] همچنین سبب آلودگی محیط زیست و سرکوب سیستم ایمنی حیوانات می‌شود [3]. در دهه‌های اخیر روش‌های جایگزین مانند مصرف واکسن‌ها، پروبیوتیک‌ها و داروهای گیاهی برای جلوگیری از شیوع بیماری در بخش آبی‌پروری معرفی شده‌اند [4]. واکسیناسیون موثرترین راه پیشگیری از بیماری‌های عفونی به روش تقویت پاسخ سیستم ایمنی ماهی می‌باشد [5]. با این وجود، واکسیناسیون ماهی‌ها با محدودیت‌هایی مواجه است از جمله واکسن‌های موثری برای برخی از پاتوژن‌ها ایجاد نشده است. واکسن‌های تک سویه در برابر یک نوع پاتوژن عمل می‌کند [5]. ایمن‌سازی در ماهیان کوچک و در سنین پایین دشوار است [6]. آنتی‌ژن بسیار اختصاصی و ایمنی‌زا و ادجوانت قوی یکی دیگر از عوامل ضروری برای اثربخشی واکسن است. ادجوانت ماده‌ای است که از آنتی‌ژن متمایز است. ادجوانت‌ها عمدتاً سبب فعال‌سازی سلول‌های T و B از طریق تحریک، تجمع و فعال‌سازی سلول‌های ارائه دهنده آنتی‌ژن (APC) می‌شود. ادجوانت‌ها توسط APCها، بیان محرک‌های فعال‌کننده سلول T و سیتوکین‌ها را تحریک می‌کنند [7]. به منظور بهبود سلامت ماهی توصیه شده است که محرک‌های ایمنی یا مخلوطی از گیاهان و پروبیوتیک‌ها همراه با واکسیناسیون استفاده شود [8]. این مقاله بر روی اثرات ادجوانت گیاهان تمرکز دارد. گیاهانی اثر محافظتی یک واکسن بر علیه یک آنتی‌ژن خاص را تقویت می‌کنند.

## 2. عصاره/اسانس گیاهی در آبی‌پروری

گیاهان دارویی به دلیل وجود ترکیبات طبیعی مانند روغن‌های ضروری، فنولیک، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، استروئیدها و رنگدانه‌ها در آن، ضد استرس، تقویت‌کننده رشد، محرک اشتها، انرژی بخش، تحریک‌کننده سیستم ایمنی و دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشد [9]. اثرات محرک ایمنی گیاهان در چندین گونه ماهی تجاری از جمله ماهی کروکر زرد، کپور معمولی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، تیلاپیا، ماهی قرمز، کاراس، ماهی روهو، ماهی کاتلا، کفشک زیتونی، تیلاپیا و مارماهی ژاپنی تایید شده است [10، 11]. علاوه بر این، اثرات ضد باکتریایی گیاهان به شکل عصاره یا اسانس روی پاتوژن‌های مختلف باکتریایی ماهی مانند *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio harveyi*، استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوس گارویه، سودوموناس فلورسنس و ادواردزیلا تاردا مورد مطالعه قرار گرفته است [9، 11]. بیشتر گیاهان دارویی بررسی شده دارای چندین مزیت از جمله آماده‌سازی آسان، هزینه کم، طیف اثر وسیع و اثرات مستقیم بر سلول‌های ایمنی را دارد [12]. این مواد طبیعی، زیست‌سازگار، زیست‌تخریب‌پذیر و برای سلامتی انسان و طبیعت ایمن هستند. اغلب عصاره‌های گیاهی به صورت خوراکی تجویز می‌شود. روش خوراکی بهترین راه برای تحریک عملکردهای ایمنی حیوان هدف است با این حال، اثرات آن‌ها وابسته به دوز می‌باشد و ممکن است بیش از حد مصرف شوند [13].

### 3. مکانیسم عملکرد ایمونولوژیکی گیاهان

بیشتر مطالعات گیاهان در ماهیان عمدتاً بر روی عملکردهای پاراکلینیکی آنها می‌باشد. هر چند بسیاری از گیاهان دارویی اثرات درمانی آشکاری را بر بیماری‌های مختلف ماهی نشان داده‌اند ولی مکانیسم‌های اثری آن به خوبی درک نشده است [8,1]. با این حال، این احتمال وجود دارد که اجزای مختلف گیاهان ممکن است مسئول عملکردهای پاراکلینیکی در ماهی باشند [14,15]. اجزای فعال ممکن است مولکول‌های ذاتی موجود در گیاه یا الیگوساکاریدهای محرک سیستم ایمنی مشتق شده از کربوهیدرات‌های گیاهی باشد [16]. مواد موجود در گیاهان عبارتند از فنول‌ها، ترپنوئیدها، پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها. از این رو، به منظور حفظ مواد مفید گیاهان استفاده از حلال برای استخراج ضروری است. مطالعات نشان می‌دهد ماهیت و روش استخراج گیاه به منظور به دست آوردن مواد مفید از نظر ایمنی مهم می‌باشد. اگرچه مطالعه مکانیسم ایمونولوژیکی گیاهان در ماهیان کافی نیست، ولی در پستانداران این مطالعات با وسعت بیشتری انجام شده است. گیاهان دارویی به عنوان لیگاند‌های TLR عمل کرده و منجر به پاسخ‌های ایمنی ذاتی مختلف از طریق مسیرهای سیگنال‌دهی TLR می‌شود [17,12,18]. عملکرد گیاهان بسته به گونه به دلیل تفاوت در ترکیبات گیاهی متفاوت است. برخی از گیاهان باعث ایجاد پاسخ‌های ضدالتهابی می‌شوند [19,20] در حالی که بعضی پاسخ‌های پیش‌التهابی را فعال می‌کنند [21]. بیان اینترفرون نوع II توسط گیاهان نشان می‌دهد که گیاهان می‌توانند انتخابی برای درمان‌های ویروسی ماهی باشند [22,23].

### 4. استفاده از گیاهان دارویی به عنوان ادجوانت

در ماهی تیلاپیا دو روز قبل از واکسینه شدن با واکسن کشته شده حرارتی *A. hydrophila* عصاره برگ گودوچی (*Tinospora cordifolia*) تجویز کردند. این تجویز سبب شد در چالش با باکتری *A. hydrophila* سطح آنتی‌بادی به صورت طولانی مدت و مقاومت ماهی در برابر بیماری افزایش یابد [17]. این گیاه به دلیل دارا بودن آلکالوئیدها، لاکتون‌های دی ترپنوئید، گلیکوزیدها، استروئیدها، سسکوئیتیرپنوئیدها، فنول‌ها، ترکیبات آلیفاتیک و پلی‌ساکاریدها منجر به افزایش جمعیت ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها می‌شود [24]. در یک مطالعه، کپور هندی (*Labeo rohita*) قبل از واکسیناسیون با مخلوط گیاهی محتوی *T. cordifolia*، اوسیموم سانکتوم (*O. sanctum*)، آشواگاندا (*Withania somnifera*) و آملا (*Emblica officinalis*) تغذیه شد. سپس با باکترین *A. hydrophila* حاوی ادجوانت کامل فروند (Freund) واکسینه گردید. این ماهی در چالش با *A. hydrophila* در روز 16 و 31 تغذیه با مخلوط گیاهی، کاهش مرگ و میر و افزایش سطح آنتی‌بادی را نشان داد [19]. آملا سرشار از ویتامین C است که این ویتامین یک ماده آنتی‌اکسیدان قوی، با خاصیت تحریک تولید لنفوسیت، اینترلوکین 2 (IL-2) و فعال کننده اینترفرون (IFN) گاما است [25] بنابراین، احتمالاً برخی از این اثرات ادجوانت گیاهی به دلیل اثر ویتامین C روی عملکرد ایمنی و فیزیولوژیکی می‌باشد. تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با عصاره جلبک (آلژینات) قبل از تریق واکسن کشته شده *Y. ruckeri* سبب القای بیان ژن سیتوکین‌های IL-1b، IL-8 و فاکتور نکروز تومور آلفا ( $TNF\alpha$ ) در کبد می‌شود، که اینها منجر به افزایش اثربخشی واکسن در ماهی می‌شود [26]. همچنین، بیان ژن پروتئین شوک حرارتی (Hsp70) و سطح کورتیزول به طور قابل توجهی کاهش یافت، که این مطلب نشان دهنده مقابله با استرس ناشی از دستکاری ماهی می‌باشد [26]. تغذیه از اسید آلزینیک مشتق شده از عصاره جلبک دارای اثرات دوگانه به عنوان ادجوانت و افزایش دهنده رشد می‌باشد.

صفحه 4



*salmonicida* و رژیم غذایی حاوی پودر آلوئه ورا با غلظت 0/5 درصد به مدت شش هفته هیچ تاثیری بر عملکرد سیستم ایمنی و پاسخ‌های ایمنی قزل آلا سر فولادی نداشت [39]. چنین تفاوت تأثیری می‌تواند به دلیل عوامل متعددی از جمله تفاوت محل رشد گیاه، تغییرات مختلف در ترکیب شیمیایی، روش استخراج، مدت زمان مصرف، تفاوت گونه و اندازه ماهی، پارامترهای کیفی آب به ویژه دمای آب و همچنین مسیر و دوز تجویز آلوئه‌ورا باشد. آلوئه‌ورا حاوی برخی پلی‌ساکاریدها از جمله پکتین، سلولز، همی‌سلولز، گلوکومانان، آسمانان و مشتقات مانوز می‌باشد. اگرچه خواص ایمنی‌زایی این پلی‌ساکاریدها در حیوانات خشکی‌زی به خوبی ثبت شده است، اما اطلاعات کافی در مورد جزئیات مکانیسم آن‌ها در ماهی وجود ندارد [40]. پلی‌ساکارید آسمانان آلوئه‌ورا در پستانداران و پرندگان مسئول فعال‌سازی ماکروفاژها برای ترشح سیتوکین‌های  $TNF\alpha$ ، IL1 و IL6 و اینترفرون گاما است [41]. همچنین، اجزای فعال موجود در آلوئه‌ورا دارای فعالیت ضد التهابی از طریق مهار سیکلواکسیژناز در مسیر اسید آراشیدونیک می‌باشد [42]. در تیلاپیا تزریق عصاره گل کاه با دز بالا در دو روز قبل از واکسیناسیون با *A. hydrophila* به دلیل مواد تری ترپنوئید موجود در گیاه، دارای اثر سرکوب‌کنندگی سیستم ایمنی می‌باشد. در ماهی کپور (*Catla catla*) تغذیه شده با 5٪ دانه *A. aspera* به مدت چهار هفته قبل و بعد از واکسیناسیون داخل صفاقی با RBC مرغ، سطح آنتی بادی اختصاصی آنتی‌ژن، فعالیت ضد ترپسین، گلوبولین و نسبت RNA/DNA طحال و کلیه افزایش یافت [43]. همچنین در ماهی روهو تغذیه شده با 0/01، 0/1 و 0/5 درصد دانه *A. aspera* به مدت دو هفته قبل از واکسیناسیون با *A. hydrophila* کشته شده منجر به افزایش تولید آنیون سوپراکسید، لیزوزیم، پروتئین کل، گلوبولین، فعالیت باکتری‌کشی و افزایش میزان بقا پس از چالش با باکتری *A. hydrophila* شد [44]. تغذیه 4 هفته‌ای کپور (*Catla catla*) با رژیم غذایی دارای مکمل حاوی *A. aspera* قبل از واکسینه شدن ماهی با BSA، سبب حضور آنتی ژن در طحال ماهی و افزایش تیتراژ آنتی‌بادی اختصاصی BSA شد [45]. در ماهی کپور تغذیه شده با رژیم حاوی 0/5٪ و 1٪ دانه‌های *A. aspera* به مدت 50 روز قبل از واکسینه شدن با واکسن کشته شده حرارتی *A. hydrophila* میزان انفجار تنفسی، فعالیت باکتری‌کشی لیزوزیم، و پاسخ آنتی بادی و همچنین بیان برخی ژن‌های مربوط به سیستم ایمنی یعنی  $TNF\alpha$ ، لیزوزیم C و G و IL-10 در بافت‌های کلیه، هپاتوپانکراس و آبشش افزایش یافت [45]. *A. aspera* حاوی ترکیبات مختلفی از جمله ساپونین‌های تری ترپنوئید می‌باشد [46] اما مکانیسم عمل آن‌ها در سیستم ایمنی ماهی نیاز به مطالعات بیشتری دارد. دلقک‌ماهی واکسینه شده با ویبریو آلژینولیتیکوس زنده و رژیم غذایی حاوی عصاره برگ گیاه حرا خاکستری (*Avicennia marina*) به میزان 1، 2 و 4 درصد به مدت 8 هفته، افزایش فعالیت‌های انفجار تنفسی، فاگوسیتیک، لیزوزیم، عناصر مکمل و همچنین میزان بقا به ویژه در دوزهای بالاتر (یعنی 4 درصد) نشان داد [47]. *A. marina* حاوی بیش از 66 ماده شیمیایی مانند فلاونوئید و گلیکوزید، ایریدوئید، اسیدهای چرب و نفتوکینون است [48] که در انسان به عنوان دارو برای درمان بیماری‌های مختلف مانند سرطان، گال، هپاتیت، جذام، سوختگی، نیش مار، تومور، زخم، روماتیسم، گلودرد و سایر بیماری‌های پوستی استفاده می‌شود. علاوه بر این، عصاره *A. marina* فعالیت ضد میکروبی در برابر برخی از گونه‌های باکتریایی و قارچی بیماری‌زا نشان داد [49]. مصرف عصاره متانولی پاریجات (*Nyctanthes arbortristis*) به عنوان ادجوانت در ماهی تیلاپیای واکسینه شده با *A. hydrophila* سبب شد تیتراژ آنتی‌بادی، لیزوزیم، فعالیت میلوپراکسیداز، تعداد لکوسیت‌ها و میزان بقای ماهی را در چالش با باکتری *A. hydrophila* افزایش دهد [50]. اثر مخلوط سیر و روغن معدنی به عنوان ادجوانت همراه با واکسن کشته شده *A. hydrophila* در ماهی کپور هندی مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری پارامترهای ایمنی 30 روز پس از واکسیناسیون ماهی همراه با این اجوانت (1000-10 میکروگرم در هر دوز واکسن) نشان داد فعالیت همولیزین، تیتراژ آگلوتیناسیون سرم و میزان بقای ماهی افزایش پیدا کرده است [51] با این حال، غلظت بالاتر از 100 و 1000 میکروگرم اثر نامطلوب قابل توجهی را روی ایمنی و بقای ماهیان به چالش کشیده با *A. hydrophila* ایجاد کرد [51]. آلیسین، جزء فعال



ایمونولوژیک سیر، با مهار سنتز RNA و پروتئین، باکتری‌ها را از بین می‌برد. فعالیت آنتی‌باکتریال سیر شامل تقویت فعالیت فاگوسیتوز سلول‌های فاگوسیتی [52]، فعال‌سازی رادیکال‌های هیدروکسیل و همچنین آنیون‌های سوپراکسید [53]، فعال‌سازی گلووتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌شود [54]. لکترین پروتئین فراوان موجود در سیر است و می‌تواند به سلول‌های باکتری متصل شده و آبشار کمپلمان و عملکرد فاگوسیتوز فعال شود [55]. با این حال، معایب استفاده از سیر به عنوان ادجوانت اثر کوتاه مدت آن بر تحریک سیستم ایمنی است که ممکن است به دلیل برخی از ترکیبات موجود در سیر مانند آلپسین، ترکیبات آلی گوگردی باشد که به راحتی تجزیه می‌شود [51]. تغذیه بچه ماهی تیلاپیا با مکمل غذایی حاوی سیر، گل مخروطی بنفش شرقی، Organic Green<sup>TM</sup> و Vet-Yeast<sup>TM</sup> (هر کدام 4 گرم در 1 کیلوگرم) به مدت پنج ماه قبل از واکسیناسیون با *A. hydrophilla* سبب شد تیترا آنتی‌بادی و بقا در مقایسه با ماهی‌هایی که فقط واکسن دریافت کرده بودند، افزایش یابد. اثر تقویت شده واکسن ممکن است به دلیل افزایش فعالیت فاگوسیتوزی [56] و فعالیت باکتری کشی باشد [57]. اکیناسه حاوی پلی ساکارید، آلکامید، کتوآلکن، مشتقات کافئیک اسید و گلیکوپروتئین‌هایی است که قادر به فعال کردن ماکروفاژها برای تولید سیتوکین‌هایی مانند IL-1، IL-6، TNF $\alpha$  و IL-10 هستند [58]. همچنین، فعال شدن ماکروفاژها و تولید سیتوکین‌ها ممکن است تا حدی به دلیل آلکیل آمیدهای چربی دوست و مواد اسید سیکوریک در این گیاه باشد [58]. در ماهی روهو واکسینه شده با واکسن ادواردزیلا تاردا کشته شده با فرمالین و تغذیه شده با 3، 1 و 60 روز نسبت به گروه درمان شده با لوامیزول، ویتامین C، E و گروه کنترل به طور قابل توجهی سطح بالاتری از پاسخ آنتی بادی مشاهده شد [59]. مرگ و میر کمتر از 5 درصد در ماهیان واکسینه شده در چالش با *E. tarda* گزارش شد. در مقایسه مرگ و میر 10٪، 20٪ و 20٪ به ترتیب در گروه ایمن شده با لوامیزول، ویتامین C و ویتامین E مشاهده شد. در یک مطالعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با واکسن دو ظرفیتی استرپتوکوکوس و لاکتوکوکوس همراه با بتا گلوکان مشتق شده از ساکارومایسس سرویزیه (به میزان 1 گرم به ازای هر کیلوگرم غذا در روز به مدت 40 روز تغذیه) ایمن شد [60]. در این گروه در چالش با *S. iniae*، میزان بقا 83/95٪ گزارش شد در صورتی که میزان بقای 68/18 درصد در گروه واکسینه شده ای که بتاگلوکان دریافت نکرده بودند، مشاهده شد. همچنین در گروه تغذیه شده با بتاگلوکان وزن، FCR و تعداد لکوسیت به طور معنی داری افزایش یافت [60]. در ماهیان واکسینه شده همراه با بتاگلوکانگون در چالش با *Lactococcus garvieae*، میزان بقا 82/3٪ بود در صورتی که در گروه واکسینه شده بدون اخذ مکمل میزان زنده مانی 74/6٪ بود [61]. اگر چه اثرات گلوکان به عنوان ادجوانت به خوبی مطالعه شده است اما اطلاعاتی در رابطه با دز، روش دریافت و مدت زمان تزریق گلوکانگون به عنوان ادجوانت در واکسیناسیون ماهی نیاز به مطالعات بیشتری دارد. استفاده از Quillaja Saponaria Saponin (که ترکیبی از ساپونین‌های استخراج شده از پوست درخت آمریکای جنوبی می‌باشد) در حمام واکسن ویبریوآنکویلا روم (45 میلی گرم در لیتر) سبب شد بیان ژن IgM در بافت‌های پوست، آبشش، طحال و کلیه سپرماهی در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی افزایش یابد [62]. QSS به عنوان جزئی از ایمرسیون واکسن، بر ایمنی ذاتی مانند فعال‌سازی عناصر مکمل، فاگوسیتوز ماکروفاژ، ارائه آنتی ژن به طور موثری تاثیر می‌گذارد [4]. با این حال، ساپونین‌ها، بسته به تعداد، طول و موقعیت زنجیره‌های قند جانبی و انواع گروه گلوکوزیل، فعالیت‌های متفاوتی دارند [62]. در تجویز اسانس رزماری، زیره سیاه و سیاه دانه (هر کدام به میزان 50 تا 100 میکروگرم برای هر ماهی) به عنوان ادجوانت با واکسن دو ظرفیتی لاکتوکوکوس و استرپتوکوکوس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان دادند در چالش با *L. garvieae* با حدت بالا فقط روغن سیاه دانه (به میزان 200 میکروگرم برای هر ماهی) جمعیت لکوسیتی ماهی واکسینه شده را افزایش داد [63]. خواص تعدیل کننده ایمنی و درمانی سیاه دانه ممکن است به دلیل برخی از ترکیبات بیولوژیکی از جمله ترپن‌ها (تیموکینون، دیتیموکینون، ترانس آنتول، لیمونین و کارون، دی‌ترپن، تری‌ترپن و ترپن آلکالوئیدها) باشد که سبب افزایش پروتئین کل و آنتی‌بادی اختصاصی در ماهی قزل‌آلا



می‌شود [64]. تجویز خوراکی 5 هفته ای عصاره مرزه خوزستانی و لعل کوهستانی در شکل تکی یا ترکیبی در ماهی کپور معمولی واکسینه شده با باکتری *A. hydrophila* در چالش با باکتری، تفاوت معنی داری از نظر تیتراژ آنتی بادی، لیزوزیم و فعالیت باکتری کشی سرم در مقایسه با گروه شاهد، مشاهده نشد. اما درصد بقای بالاتری در ماهیان واکسینه شده با مرزه خوزستانی یا لعل کوهستانی مشاهده شد [65]. احتمالاً تفاوت‌های مشاهده شده به دلیل تفاوت در گونه‌های گیاهی، آنتی‌ژن و گونه ماهی استفاده شده باشد. اوسیموم سانکتوم حاوی برخی ترکیبات فنلی از جمله سیرسیلینول، سیرسیماریتین، ایزوتیموسین، آپیزین، اسید روزامریک و اوژنول می‌باشد [66] و مکانیسم‌های واقعی آن‌ها در سیستم ایمنی ماهی نیاز به مطالعه بیشتری دارد. اندرسون و همکاران در سال 1992 پیشنهاد کردند [67] که افزایش پاسخ ایمنی توسط تجویز ادجوانت قبل از واکسیناسیون ممکن است ماهی را برای قرار گرفتن در معرض هر گونه ایمونوژن آماده کند. نتیجه مشابه قبلاً توسط اندرسون و همکاران در سال 1989 مشاهده شده بود [68]. افزایش تولید آنتی‌بادی در گروه‌هایی که از قبل با این گیاه درمان شده‌اند ممکن است تا حدی به دلیل اثر گیاه در تکثیر لنفوسیت‌ها باشد، اگرچه مطالعات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است.

## 5. نتیجه گیری

توسعه صنعت آبی پروری به گسترش منابع غذایی کمک خواهد کرد. با این حال، شیوع بیماری در ماهی یکی از موانع اصلی در بخش آبی پروری است بنابراین، پیشگیری فعال از بیماری با روش‌هایی همچون تجویز واکسن برای توسعه پایدار این صنعت بسیار حیاتی می‌باشد. یک واکسن خوب به آنتی‌ژن و مکمل مناسب نیاز دارد. اخیراً گیاهان دارویی به طور فعال مورد استفاده قرار گرفته‌اند. بیشتر مطالعات اثرات مثبت گیاهان را به عنوان ادجوانت نشان می‌دهد. اثربخشی واکسن در حیوان آبی هدف به عواملی مانند محیط زیست (به عنوان مثال کیفیت آب، پارامترها به ویژه دمای آب، اکسیژن محلول، مواد سمی موجود در آب، کیفیت و کمیت خوراک)، میزبان (سن، گونه و اندازه)، واکسن (ساختار آنتی ژن، وضعیت اپی‌توپ، دز، روش تجویز، نوع ادجوانت) بستگی دارد. بنابراین، مقایسه دقیق نتایج داده‌های موجود از مطالعات قبلی دشوار است. مکانیسم اثر ادجوانت‌های گیاهان باید بیشتر مورد بررسی قرار گیرد. علاوه بر این، بهینه سازی دز، مدت زمان ونحوه مدیریت، کیفیت آب و شرایط خوراک باید بررسی شود. ارزیابی برخی معیارها مانند مکانیسم‌های واقعی، ایمنی مصرف کنندگان نیازمند مطالعات بیشتری می‌باشد.

## 6. مراجع

1. Harikrishnan R, Balasundaram C, Heo MS (2011) Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture* 317: 115. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.03.039>.
2. Smith P, Hiney MP, Samuelesen OB (1994) Bacterial resistance to antimicrobial agent used in fish farming: a critical evaluation of method and meaning. *Annual Review in Fish Diseases* 4: 273–313.
3. Rijkers GT, Teunissen AG, Van Oosterom R, Van Muiswinkel WB (1980) The immune system of cyprinid fish: the immunosuppressive effect of the antibiotic oxytetracycline in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* 19: 177–189.
4. Song X, Hu S (2009) Adjuvant activities of saponins from traditional Chinese medicinal herbs. *Vaccine* 27: 4883–4890. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.06.033>.



5. Ardo LG, Yin P, Xu L, Varadi G, Szigeti Z, Jeney G (2008) Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 275: 26–33.
6. Kaattari SL, Piganelli JD (1997) Immunization with bacterial antigens: bacterial kidney disease. *Developments in Biological Standardization* 90: 145–152.
7. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S (2017) *Cellular and Molecular Immunology*, 9th edn, p. 608. Elsevier, Philadelphia, USA.
8. Aly S, Mohamed AAZ, Rahmani AH, Nashwa MAA (2016) Trials to improve the response of *Oreochromis niloticus* to *Aeromonas hydrophila* vaccine using immunostimulants (garlic, Echinacea) and probiotics (Organic Green TM and Vet-Yeast TM). *African Journal of Biotechnology* 15: 989–994.
9. Soltani M, Sheikhzadeh N, Mousavi HAE, Zargar A (2010) Effects of *Zataria multiflora* essential oil on innate immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fisheries Aquatic Sciences* 5: 191–199.
10. Soltani M, Esfandiary M, Khazraenia S (2009) Effects of *Zataria multiflora* essential oil on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) egg hatchability and survival of larvae compared with hydrogen peroxide and malachite green. *Journal of Veterinary Research* 64: 127–134.
11. Moghimi SM, Soltani M, Mirzargar SS, Ghodratnama M (2013) Effects of *Eucalyptus camaldulensis*, *Mentha pulegium*, *Aloe vera* essences and chloramine T on growth behavior of *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garvieae* the causes of streptococcosis/lactococcosis in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries* 66: 106–118. <https://doi.org/10.22059/jfisheries.2013.35468>
12. Hai NV (2015) The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: a review. *Aquaculture* 446: 88–96. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.03.014>.
13. Bulfon C, Volpatti D, Galeotti M (2015) Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. *Aquaculture Research* 46: 513–551.
14. Ringø E, Olsen RE, Jensen I, Romero J, Lauzon HL (2014) Application of vaccines and dietary supplements in aquaculture: possibilities and challenges. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 24: 1005–1032. <https://doi.org/10.1007/s11160-014-9361-y>.
15. Pandey G, Sharma M, Mandloi AK (2012) Medicinal plants useful in fish diseases. *Plant Archives* 12: 1–4.
16. Dawood MAO, Koshio S, Esteban MA (2017) Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture* 1–25. <https://doi.org/10.1111/raq.12209>.
17. Sudhakaran DS, Sirekha P, Devasree LD, Prem Singh S, Michael RD (2006) Immunostimulatory effect of *Tinospora cordifolia* Miers leaf extract in *Oreochromis mossambicus*. *Indian Journal of Experimental Biology* 44: 726–732.
18. Revertera M, Bontemps N, Lecchini D, Banaigs B, Asal P (2014) Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture* 433: 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.048>.
19. Kumari J, Sahoo PK, Giri SS (2007) Effects of polyherbal formulation ‘ImmuPlus’ on immunity and disease resistance of Indian major carp, *Labeo rohita*, at different stages of growth. *Indian Journal of Experimental Biology* 45: 291–298.



20. Vallejos-Vidal V, Reyes-Lpez F, Teles M, MacKenzie M (2016) The response of fish to immunostimulant diets. *Fish & Shellfish Immunology* 56: 34–69. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.06.028>.
21. Awaad E, Awaad A (2017) Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish & Shellfish Immunology* 67: 40–54. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.05.034>
22. Castro R, Lamas J, Morais P, Sanmartín ML, Orallo F, Leiro J (2008) Resveratrol modulates innate and inflammatory responses in fish leucocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 126: 9–19.
23. Divyagnaneswari M, Christyapita D, Michael D (2007) Enhancement of nonspecific immunity and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* by *Solanum trilobatum* leaf fractions. *Fish Shellfish Immunology* 23: 249–259.
24. Khatun H, Kundu S, Kazi MM, Ahmed M (2016) Guduchi (*Tinospora cordifolia*) (Wild), a traditional Indian herb and its medicinal importance-an ayurvedic approach with contemporary view. *International Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine* 64: 2260–2267.
25. Ram SM, Neetu D, Yogesh B, Anju B, Dipti P, Pauline T et al. (2002) Cyto-protective and immunomodulating properties of Amla (*Embllica officinalis*) on lymphocytes: an in-vitro study. *Journal of Ethnopharmacology* 81: 5–10.
26. Gioacchini G, Smith P, Carnevali O (2008) Effects of Ergosan on the expression of cytokine genes in the liver of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to enteric red mouth vaccine. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 123: 215–222.
27. Peddie S, Zou J, Secombes CJ (2002) Immunostimulation in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following intraperitoneal administration of Ergosan. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 86: 101–113.
28. Faghani T, Kousha A, Azari-Takami GH, Faghani S (2008) Study on growth performance, survival rate, hematological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Mazandaran province of Iran. *Journal of Fisheries and Aquatic Science* 3:398–403.
29. Yin G, Ardo L, Thompson KD, Adams A, Jeney Z, Jeney G (2009) Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunology* 26: 140–145.
30. Zheng Z, Yingeng W, Qingyin W, Nannan D, Meijie L, Jiangbo Q et al. (2012) Study on the immune enhancement of different immunoadjuvants used in the pentavalent vaccine for turbot. *Fish and Shellfish Immunology* 32: 391–395. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.11.014>
31. Kong X, Hu Y, Song D (2004) Research progress of immunopharmacology of *Astragalus polysaccharide*. *Journal of Chinese Veterinary* 3: 34–37.
32. Lin Y-L, Liang Y-C, Lee S-S, Chiang B-L (2005) Polysaccharide purified from *Ganoderma lucidum* induced activation and maturation for human mono cyte-derived dendritic cells by the NF- $\kappa$ B and p38 mitogen-activated protein kinase pathways. *Journal of Leukocyte Biology* 78: 533–543.
33. Thangaviji V, Michaelbabu M, Anand SB, Gunasekaran P, Citarasu T (2012) Immunization with the *Aeromonas* OMP provides protection against *Aeromonas*



- hydrophila in Goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Microbial & Biochemical Technology* 4: 45–59. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000070>.
34. Park K, Choi S (2014) Effects of *Prunella vulgaris labiatae* extract on specific and non-specific immune responses in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal Science and Technology* 56: 3. <https://doi.org/10.1186/2055-0391-56-3>.
35. Verma VK, Rani KV, Sehgal N, Prakash O (2012) Immunostimulatory responses induced by supplementation of *Ficus benghalensis* root powder, in the artificial feed the Indian freshwater murrel, *Channa punctatus*. *Fish Shellfish Immunology* 33: 590–596.
36. Verma VK, Rani KV, Sehgal N, Prakash O (2015) Enhanced disease resistance in the Indian snakehead (*Channa punctate*) against *Aeromonas hydrophila*, through 5% feed supplementation with *F. benghalensis* (aerial root) and *L. leucocephala* (pod seed). *Aquaculture International* 23: 1127–1140. <https://doi.org/10.1007/s10499-014-9870-7>.
37. Abdy E, Alishah M, Tabandeh MR, Ghorbanpoor M, Jafari H (2016) Comparative effect of Freund's adjuvant and Aloe vera L. gel on the expression of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in vaccinated *Cyprinus carpio* L. with *Aeromonas hydrophila* bacterin. *Aquaculture Research* 47: 2543–2552.
38. Abdy E, Alishahi M, Tollabi M, Ghorbanpour M, Mohammadian T (2016) Comparative effects of Aloe vera gel and Freund's adjuvant in vaccination of common carp (*Cyprinus carpio* L.) against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture International* 25: 273–742.
39. Zanuzzo FS, Urbinati EC, Rise ML, Hall JR, Nash GW, Gamperl AK (2015) *Aeromonas salmonicida* induced immune gene expression in Aloe vera fed steelhead trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture* 435: 1–9.
40. Lee JK, Lee MK, Yun YP, Kim Y, Kim JS et al. (2001) Acemannan purified from Aloe vera induces phenotypic and functional maturation of immature dendritic cells. *International Immunopharmacology* 1: 1275–1284. [https://doi.org/10.1016/S1567-5769\(01\)00052-2](https://doi.org/10.1016/S1567-5769(01)00052-2).
41. Ulbricht C, Armstrong J, Basch E, Basch S, Bent S, Dacey C et al. (2008) An evidence based systematic review of Aloe vera by the natural standard research collaboration. *Journal of Herbal Pharmacotherapy* 7: 279–323.
42. Vazquez B, Avila G, Segura D, Escalante B (1996) Anti-inflammatory activity of extracts from Aloe vera gel. *Journal of Ethnopharmacology* 55: 69–75.
43. Rao YV, Chakrabarti R (2005) Stimulation of immunity in Indian major carp *Catla catla* with herbal feed ingredients. *Fish & Shellfish Immunology* 18: 327–334.
44. Rao Y, Das B, Jyotirmayee 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.
45. Chakrabarti R, Vasudeva RY (2006) *Achyranthes aspera* stimulates the immunity and enhances the antigen clearance in *Catla catla*. *International Immunopharmacology* 6: 782–790.
46. Srivastava S, Singh P, Mishra G, Jha KK, Khosa R (2011) *Achyranthes aspera*-an important medicinal plant: a review. *Journal of Natural Product and Plant Resources* 1: 1–14.
47. Dhayanithi NB, Kumar TTA, Arockiaraj J, Balasundaram C, Harikrishnan R (2015) Dietary supplementation of *Avicennia marina* extract on immune protection and disease resistance in *Amphiprion sebae* against *Vibrio alginolyticus*. *Fish Shellfish Immunology* 45: 52–58.



48. Guo XX, Tao Z, Song WD (2008) Characteristics of chemical constituents of volatile oil from leaves of mangrove plant *Avicennia marina* by gas chromatography/mass spectrometry. *Tropical Oceanology* 27: 57e9.
49. Machado KN, Kaneko TM, Young MCM, Murakami C, Cordeiro I, Moreno PRH (2017) Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from two *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. Ex Moldenke (Acanthaceae) populations. *Medicines* 4: 26. <https://doi.org/10.3390/medicines4020026>.
50. Kirubakaran CJW, Subramani PA, Michael RD (2016) Methanol extract of *Nyctanthes arborescens* seeds enhances non-specific immune responses and protects *Oreochromis mossambicus* (Peters) against *Aeromonas hydrophila* infection. *Research in Veterinary Science* 105: 243–248.
51. Dash P, Yadav C, Sahoo PK (2014) Immunoadjuvant effect of garlic (*Allium Sativum*)-mineral oil suspension on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in rohu, *Labeo rohita*. *International Aquaculture Research* 6: 167–173.
52. Nya EJ, Austin B (2009) Use of garlic (*Allium sativum*) to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 32: 963–970.
53. Kim KM, Chun SB, Koo MS, Choi WJ, Kim TW, Kwon YG et al. (2001) Differential regulation of NO availability from macrophages and endothelial cells by the garlic component S-allyl cysteine. *Free Radical Biology and Medicine* 30: 747–756.
54. Metwally MAA (2009) Effects of garlic (*Allium sativum*) on some antioxidant activities in tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). *World Journal of Fish and Marine Sciences* 1: 56–64.
55. Lee JY, Gao Y (2012) Review of the application of garlic, *Allium sativum* in aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Reviews in Aquaculture*, 1–17
56. Shoemaker A, Klesius H, Plumb A (1997) Killing of *Edwardsiella ictaluri* by macrophages from channel catfish immune and susceptible to enteric septicemia catfish. *Immunology and Immunopathology* 58: 181–190.
57. Sahu S, Das K, Mishra K, Pradhan J, Sarangi N (2007) Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Applied Ichthyology* 23: 80–86.
58. Manayi A, Vazirian M, Saeidnia S (2015) *Echinacea purpurea*: pharmacology, phytochemistry and analysis methods. *Pharmacognosy Review* 9: 63–72. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.156353>.
59. Sahoo PK, Mukherjee, SC (2002) The effect of dietary immunomodulation upon *Edwardsiella tarda* vaccination in healthy and immunocompromised Indian major carp (*Labeo rohita*). *Fish and Shellfish Immunology* 12: 1–16.
60. Pourmozaffar S, Soltani M, Nafisi Bahabadi M, Mohajeri J, Mohammady M, Pazir Kh (2015) Study effect of Macrogard on efficacy of Anti-*Streptococcus iniae* vaccine and some haematological and growth parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Veterinary Journal* 11: 44–53.
61. Wang Y, Wang X, Huang J, Li J (2016) Adjuvant effect of *Quillaja saponaria* saponin (QSS) on protective efficacy and IgM generation in turbot (*Scophthalmus maximus*) upon immersion vaccination. *International Journal of Molecular Science* 17:325–335. <https://doi.org/10.3390/ijms17030325>.



62. Sun H, Yang Z, Ye Y (2005) Structure and biological activity of protopanaxatriol-type saponins from the roots of *Panax notoginseng*. *International Immunopharmacology* 6: 14–25. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2005.07.003>.
63. Raissy M, Hashemi S, Roushan M, Jaafarian M, Momtaz H, Soltani M et al. (2018) Effects of *Satureja bachtiarica* and *Nigella sativa* essential oils on the efficacy of lactococcosis vaccine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 17: 1–12.
64. Dorucu M, Ozesen Colak S, Ispir U, Altinterim B, Celayir C (2009) The effect of black cumin seeds, *Nigella sativa*, on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Mediterranean Aquaculture Journal* 2: 27–33.
65. Alishahi M, Halimi M, Khansari K, Yavari Y (2015) Extracts of *Oliviera decumbens* and *Satureja khuzestanica* as immunostimulants affect some innate immunity indices of *Cyprinus carpio* against *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture Research* 47: 2909–2916.
66. Verma S (2016) Chemical constituents and pharmacological action of *Ocimum sanctum* (Indian holy basil-Tulsi). *Journal of Phytology* 5: 205–207.
67. Anderson PD (1992) Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers fish: applications to aquaculture. *Annual Review in Fish Diseases* 2: 281–307.
68. Anderson DP, Siwicki AK, Dixon OW, Lizzio EF (1989) Immunostimulation by levamisole in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in vivo. In: Ahne W, Kurstak E (eds) *Viruses of Lower Vertebrates*, pp. 469–478. Springer-Verlag, New York.