Archive of SID

تاثیر عصاره خوراکی گیاه دارویی خارمریم (*Silybum mariamum*) بر برخی فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

احمدی، ک.، وثوقی، ع.ا.، میرواقفی، ع.ر.، عطایی مهر، ب. و بنایی، م.، ۱۳۸۹. تاثیر عصاره خوراکی گیاه دارویی خارمریم (*Silybum mariamum*) بر برخی فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال دوم، شماره هفتم، پاییز ۱۳۸۹، صفحات ۲۶-۱۹.

چکیده

استفاده از گیاهان دارویی به عنوان ترکیبات محرک و تقویت کننده سیستم ایمنی ماهی‌ها در طی سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است، اما اطلاعات موجود در این زمینه بسیار محدود است. در این مطالعه سطح تغییرات ایمنوگلبولین IgM، کمپلمان تام، لیزوزیم و پراکسیداز پلاسمای ماهی‌هایی که با مکمل دارویی سیلی‌مارین با دوزهای ۱۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم دارو به ازای هر کیلوگرم غذای تجاری به مدت ۲۸ روز تغذیه شده‌اند، مورد بررسی قرار گرفته است. تغییرات سطح ایمنوگلبولین (IgM)، کمپلمان تام و سطح فعالیت لیزوزیم در پلاسمای ماهیانی که با مکمل غذایی تغذیه شده‌اند در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار ($p<0.05$) نیست، ولی سطح فعالیت پراکسیداز در پلاسمای ماهیانی که با مکمل غذایی سیلی‌مارین تغذیه شده‌اند، در مقایسه با دیگر گروه‌های آزمایشی افزایش معنی‌داری ($p<0.05$) نشان داد. نتایج بدست آمده در این بررسی حاکی از تاثیر مثبت سیلی‌مارین در افزایش نسبی توان سیستم ایمنی ماهیان می‌باشد.

واژگان کلیدی: خارمریم (*Silybum mariamum*) ، سیلی‌مارین، قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، سیستم ایمنی.

کمال احمدی[۱]
عبدالرحیم وثوقی[۲]
علیرضا میرواقفی[۳]
بابک عطائی‌مهر[۴]
مهدی بنایی[۵]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، تهران، ایران
۴،۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، استادیار دانشکده علوم و فنون دریایی، تهران، ایران
۳. ، دانشگاه تهران، دانشیار دانشکده منابع طبیعی، تهران، ایران
۵. دانشگاه صنعتی خاتم الانبیا بهبهان، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، استادیار گروه شیلات، بهبهان، ایران

* **نویسنده مسئول مکاتبات**
Kamal_Ahmadi61@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۱/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۳/۲۲

مقدمه

نقش مهم سیستم ایمنی در حفظ سلامت آبزیان و تضمین بقا و رشد مناسب آنها در طول دوره پرورش، سبب شده تا محققین به استفاده از انواع ترکیبات شیمیایی و طبیعی محرک و تقویت کننده سیستم ایمنی تمایل نشان دهند. در دهه‌های گذشته مطالعات گسترده‌ای در ارتباط با استفاده از گیاهان دارویی در مقیاس آزمایشگاهی در تقویت سیستم ایمنی جانوران آزمایشگاهی صورت گرفته و نتایج بدست آمده از این تحقیقات نیز به خوبی موید نقش مثبت بسیاری از گیاهان دارویی در

www.SID.ir

Archive of SID

تقویت سیستم ایمنی جانوران می‌باشد (رضایی‌پور و همکاران، ۱۳۸۲)، به عنوان مثال، مطالعه برروی نقش محرک عصاره گیاهان دارویی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) و شمعدانی (*Granium pelagonium*) در تقویت سیستم ایمنی جانوران آزمایشگاهی نشان دهنده تاثیر این مواد دارویی در تقویت سیستم ایمنی آنها بوده است (خسروی و همکاران، ۱۳۸۶). جعفریان و همکاران در سال ۱۳۸۱ نشان دادند که استفاده از عصاره گیاه دارویی گل ارونه در جیره غذایی جانوران آزمایشگاهی می‌تواند موجب تقویت سیستم ایمنی سلولی و هومورال گردد. مصرف گیاهان دارویی برای درمان و مقابله با عفونت‌های ویروسی (رضوی و همکاران، ۱۳۸۵؛ طاهرزاده و همکاران، ۱۳۸۷)، باکتریایی (Elgayyar *et al.,* 2001) قارچی (Gvindachari *et al.,* 2000) و حتی پیشگیری از شیوع انگل-های تک‌یاخته (منافر و همکاران، ۱۳۸۵)، یکی دیگر از رویکردهای جدید استفاده از این ترکیبات در فارماکولوژی است. استفاده از عصاره گیاهان دارویی به عنوان ترکیبات ضد قارچ (ابراهیم‌زاده موسوی و همکاران، ۱۳۸۵)، ضد باکتری و همچنین به عنوان ترکیبات محرک سیستم ایمنی (اخلاقی و انبارکی مطلق، ۱۳۸۳)، در افزایش توان سیستم ایمنی ماهیان از دیرباز مرسوم بوده است. با این حال بسیاری از گونه‌های شناخته شده از گیاهان دارای اثرات سوء در مصرف کنندگان نیز می‌باشند، به عنوان مثال گونه های *Achillea talagonica Boiss* و *A. tenuifolia Lam* از خانواده گیاه بومادران، یکی از مهمترین گیاهان دارویی شناخته شده است، برای آرتمیا فوق العاده سمی و کشنده می‌باشند (سعیدنیا و همکاران، ۱۳۸۴).

گیاه خار مریم از تیره کاسنی با نام علمی *Silybum mariamum* و نام انگلیسی Milk thistle واجد کمپلکس به نام سیلی مارین می‌باشد که از خاصیت دارویی فوق العاده‌ای برخوردار است. این گیاه رویش جهانی داشته و بومی ایران نیز می‌باشد. اگرچه اطلاعات مربوط به مصرف این گیاه در طب سنتی ایران در دسترس نیست ولی در طب سنتی اروپا، چین، هند و تحقیقات طب مدرن جایگاه بسیار مهمی دارد. بذر این گیاه حاوی ترکیبات متعددی از جمله انواع فلاونوییدها بوده و تاثیر خواص آنتی‌اکسیدانی و حذف رادیکال آزاد آن در انواع اختلالات متابولیسمی بررسی شده است. رادیکال‌های آزاد در انواع بیماری‌های مزمن موجب تشدید بیماری، اختلالات متابولیسمی و ایجاد بیماری های ثانویه می‌شوند. با این حال، مکانیزم عمل عصاره گیاه خار مریم به عنوان یک محرک سیستم ایمنی به خوبی تشریح نشده و تاکنون هیچ تحقیقی در زمینه تاثیر سیلی-مارین بر سیستم ایمنی ماهی‌ها صورت نگرفته، در حالی که نقش آن در تقویت سیستم ایمنی جانوران آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (David *et al.,* 2001). سیلی‌مارین با مهار چرخه ۵-لیپواکسی ژناز (5-liopxygenase) و مهار تولید لوکوترین و رادیکال‌های آزاد در سلول‌های کوپفر کبد موش موجب کاهش التهاب کبدی شده (Dehmlow *et al.,* 1996) و از وقوع پراکسیداسیون لیپیدی، بروز آسیب‌های سلولی و همولیز گلبول-های قرمز جانوران آزمایشگاهی که دچار مسمویت تجربی شده-اند، جلوگیری نماید (Fiebrich and Koch, 1979; Zou *et al.,* 2001). استفاده دارویی از سیلی مارین می‌تواند مانع از بروز التهاب سلول‌های مغزی و آسیب به سیستم عصبی مرکزی جانوران آزمایشگاهی شود (Wang *et al.,* 2002). هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره گیاه خار مریم بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بوده است.

مواد و روش‌ها

۱۲۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان سالم از نظر ظاهری با وزن ۱۵±۸۵/۵ گرم در بهمن‌ماه سال ۱۳۸۷، از یک مزرعه خصوصی خریداری و به آزمایشگاه تکثیر و پرورش ماهی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل شدند. ماهی‌ها به طور تصادفی در ۱۲ مخزن ۱۰۰۰ لیتری مجهز به هواده با طراحی سیستم نیمه‌مدار بسته و ۱۰ درصد تعویض آب در روز، توزیع و به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند تا به شرایط آزمایشگاهی سازگار شوند. ماهی‌ها در طی این مدت با جیره غذایی تجاری تغذیه شدند. این آزمایش در مدت ۲۸ روز و در قالب یک طرح کاملا تصادفی، به صورت چهار تیمار، ماهی‌های گروه کنترل و ماهی‌هایی که با دوزهای مختلف مکمل غذایی سیلی‌مارین تغذیه شدند. هر تیمار با ۳ تکرار طراحی شد.

تهیه غذا بصورت تازه و بطور هفتگی و با افزودن مکمل سیلی‌مارین (تهیه شده از شرکت گل‌دارو به صورت پودر عصاره

www.SID.ir

Archive of SID

بذر گیاه) به نسب ۱۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم غذا با پودر غذای تجاری و تهیه مجدد پلت غذایی انجام گردید (Banaee *et al.,* Article in press).

پس از شروع آزمایش، بطور تصادفی از هر مخزن ۳ ماهی و در مجموع از هر تیمار ۹ ماهی در روزهای ۱۴ 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 ۴۰۰۰g دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جداسازی و تا زمان انجام آزمایش‌های نهایی در فریز ۷۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Banaee *et al.,* Article in press). در سنجش سطح فعالیت پراکسیداز پلاسما، ۱۵ میکرولیتر پلاسما با ۳۵ میکرولیتر بافر HBSS عاری از منیزیوم و کلسیم رقیق شد (Halliwell *et al.,* 1987). سپس ۵۰ میکرولیتر محلول تترامتیل بنزیدین و ۵ میلی مول آب-اکسیژنه به آن افزوده شد، تا محلول به رنگ آبی درآید. پس از ۲ دقیقه، با افزودن ۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۲ مولار واکنش رنگی متوقف و محلول به رنگ زرد روشن تبدیل شد. در مرحله بعد میزان جذب نوری با طول موج ۴۵۰ نانومتر سنجیده شد و پس از محاسبه با جذب نوری محلول استاندارد، نتیجه برحسب واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر بیان گردید.

سنجش کمپلمان تام CH_{50} با استفاده از کیت تهیه شده از شرکت بهار افشان تهران و براساس روش ایمنودیفیوژن شعاعی اندازه‌گیری گردید. به این منظور مقدار ۵ میکرولیتر از هر نمونه، در داخل چاهک های تعیین شده قرار داده شد. سپس، پلیت ها را در یخچال قرار داده تا نمونه های مورد آزمایش به درون ژل نفوذ کرده و جذب شوند. پس از جذب نمونه ها به داخل ژل، پلیت BIRD CH50 را به شکل وارونه در یخچال، بر روی یک صفحه تراز قرار گرفته و به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. سپس پلیت از یخچال خارج و به مدت ۱/۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوباسیون گردید. در این مرحله نمونه ها بسته به غلظتشان در ژل واکنش داده و خط رسوبی تشکیل دادند. بعد از آن قطر دایره واکنش مربوط به هر یک از نمونه های کنترل و نمونه های اصلی با خط کش مخصوص SRID Triangle اندازه گیری شد. سپس برای تعیین فعالیت بر اساس واحد در میلی لیتر از جدول همراه پلیت استفاده شد..

سطح فعالیت لیزوزیم از روش کدورت سنجی و با استفاده از سوسپانسون *Micrococcus lysodeikticus* و آنزیم مورآمیداز صورت گرفت. در این روش توان لیزوزیم در تجزیه سوسپانسیون مورد استفاده قرار گرفت. آنزیم لیزوزیم پیوند ۱، ۴ گلیکوزیدی بین ان- استیل مورامیک اسید و ان- استیل گلوکزآمین را قطع می کند. این ترکیب در دیواره سلولی موکوپپتیدی میکرو ارگانیسمهایی مانند میکروکوکوس لیزودلیکیتوس یافت می شود. فعالیت لیزوزیم به روش کدورت سنجی (توربیدومتری) بر روی سوسپانسیون میکروکوکوس لیزودلیکیتوس اندازه گیری شد. با فعالیت لیزوزیم و تجزیه دیواره سلولی میکروارگانیسم مذکور، از شدت کدورت نمونه سوسپانسیون شده کاسته می شود. در اصل کدورت کمتر، نشانه فعالیت بیشتر آنزیم لیزوزیم است. میزان کدورت نیز در طول موج مورد۶۷۰ سنجش قرار گرفت. سطح ایمنوگلبولین IgM پلاسما نیز با استفاده از کیت شرکت بهار افشان تهران و اتوآنالیزر هیتاچی سنجش شد.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار MINITAB 13 و ترسیم نمودارها نیز با نرم‌افزار EXCEL 2003 صورت گرفت. تجزیه و تحلیل آماری از طریق آنالیز واریانس یک صرفه صورت گرفت و معنی‌دار بودن میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی (Tukey test) در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

نتایج

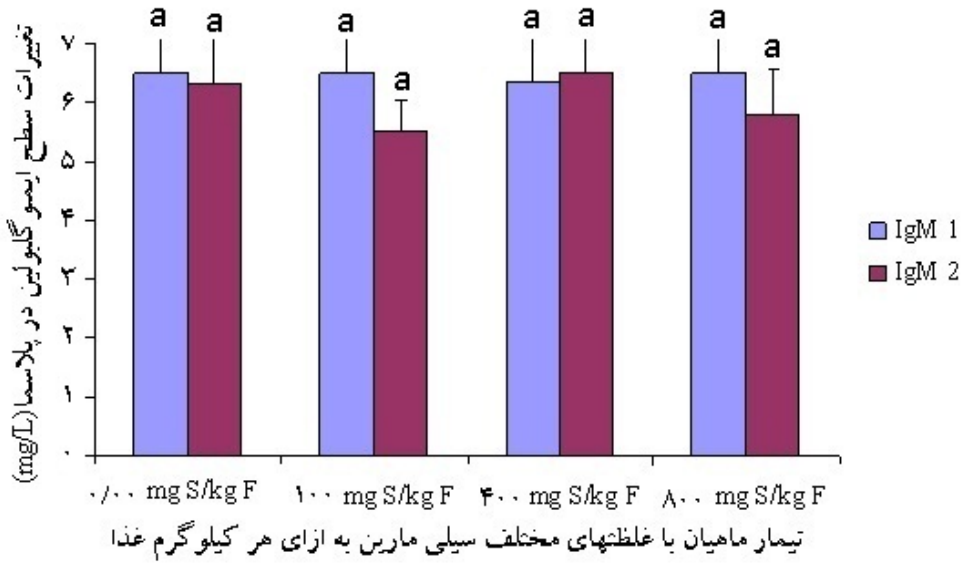
تغییرات سطح ایمنوگلبولین IgM و پراکسیداز، کمپلمان تام و همچنین لیزوزیم در پلاسمای ماهی‌های تحت تیمار بصورت نمودار در اشکال ۱ تا ۴ به ترتیب مشاهده می‌گردد.

تغییرات سطح ایمنوگلبولین (IgM) در پلاسمای ماهیانی که با مکمل غذایی تغذیه شده‌اند در نمونه‌برداری‌های صورت گرفته در روزهای ۱۴ و ۲۸ پس از شروع آزمایش در ماهی‌های تحت تیمار در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار ($p<0.05$) نیست. اگرچه سطح IgM در پلاسمای ماهیان در طی دوره آزمایش بصورت یک روند صعودی است، اما در افزایش سطح IgM در این ماهیان

www.SID.ir

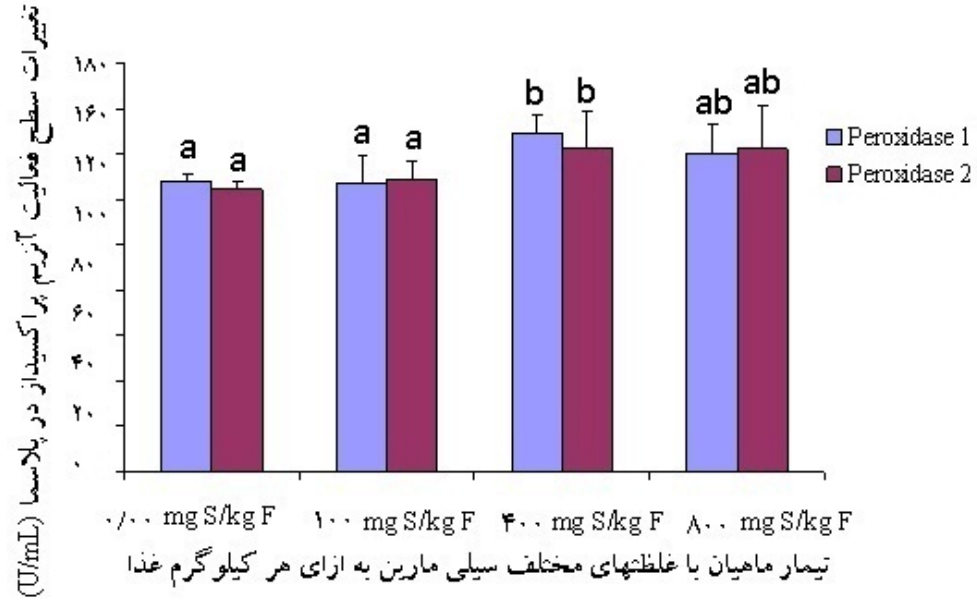
Archive of SID

در مقایسه با ماهی‌های گروه کنترل اختلاف معنی‌داری (p <۰/۰۵) مشاهده نمی‌شود (شکل۱).



شکل ۱: تغییرات سطح ایمنوگلبولین در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*) تحت تیمار جیره غذایی حاوی مکمل سیلی مارین گیاه خارمریم (*Silybum mariamum*) در سال ۱۳۸۷

سطح فعالیت پراکسیداز در پلاسمای ماهی‌هایی که با مکمل غذایی سیلی‌مارین (۴۰۰ میلی‌گرم سیلی‌مارین به ازای هر کیلوگرم غذا) تغذیه شده‌اند، در نمونه‌برداری‌های صورت گرفته در روزهای ۱۴ و ۲۸ پس از شروع آزمایش در مقایسه با دیگر گروه-های آزمایشی افزایش معنی‌داری ($p<0.05$) نشان می‌دهد (شکل۲).

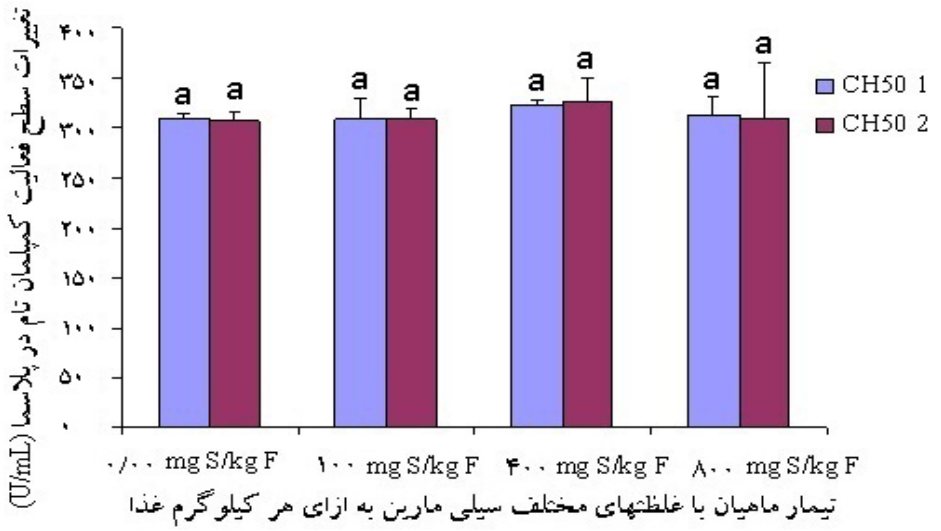


شکل۲: تغییرات سطح فعالیت پراکسیداز در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*) تحت تیمار جیره غذایی حاوی مکمل سیلی مارین گیاه خارمریم (*Silybum mariamum*) در سال ۱۳۸۷

www.SID.ir

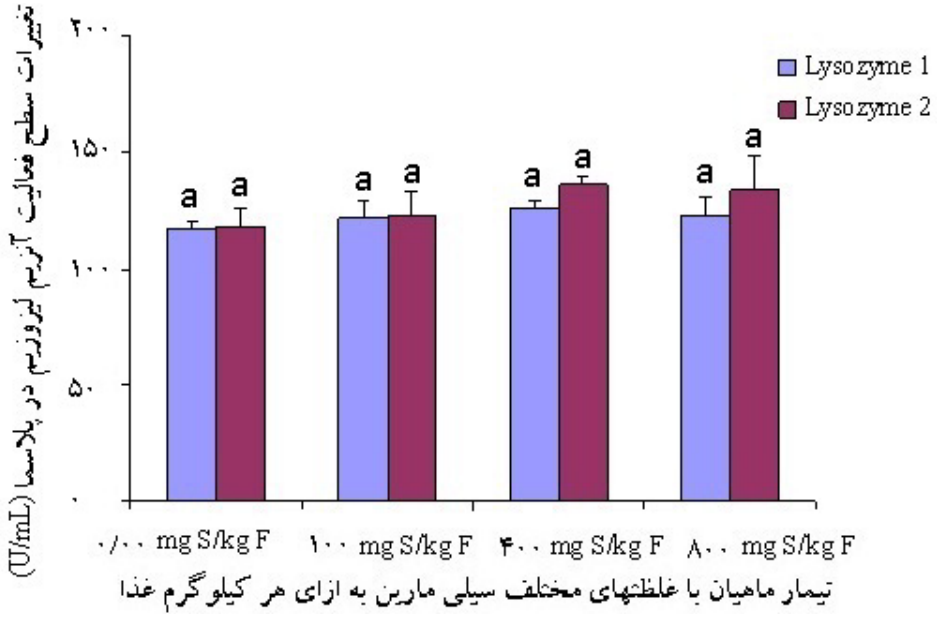
Archive of SID

در نمونه‌برداری‌های صورت گرفته در روزهای ۱۴ و ۲۸ پس از شروع آزمایش سطح کمپلمان تام در پلاسمای ماهی‌هایی که با مکمل غذایی سیلی‌مارین (۴۰۰ میلی‌گرم سیلی‌مارین به ازای هر کیلوگرم غذا) تغذیه شده‌اند در مقایسه با دیگر گروه‌های آزمایشی افزایش نشان می‌دهد، این افزایش معنی‌دار ($p<0.05$) نمی‌باشد (شکل۳).



شکل ۳: تغییرات سطح کمپلمان تام در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*) تحت تیمار جیره غذایی حاوی مکمل سیلی مارین گیاه خارمریم (*Silybum mariamum*) در سال ۱۳۸۷

تغییرات سطح فعالیت لیزوزیم در پلاسمای ماهی‌هایی در نمونه‌برداری‌های صورت گرفته در روزهای ۱۴ و ۲۸ پس از شروع آزمایش، علیرغم افزایش نسبی آن در پلاسمای ماهی‌هایی که با مکمل غذایی سیلی‌مارین (۴۰۰ میلی‌گرم سیلی‌مارین به ازای هر کیلوگرم غذا) تغذیه شده‌اند معنی‌دار ($p<0.05$) نمی‌باشد (شکل۴).



شکل ۴: تغییرات سطح فعالیت لیزوزیم در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*) تحت تیمار جیره غذایی حاوی مکمل سیلی مارین گیاه خارمریم (*Silybum mariamum*)

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه گیری

بسیاری از محققین علوم شیلاتی در طی دهه‌های اخیر، تحقیقات بسیاری را بر روی افزایش توان سیستم ایمنی ماهی‌ها در مقابل عوامل بیماری‌زا انجام داده اند. یکی از روش‌های معمول افزایش سطح توان سیستم ایمنی ماهی، استفاده از ترکیبات محرک سیستم ایمنی یا اصطلاحا محرک های ایمنی است. این ترکیبات شامل انواع مواد سنتتیک شیمیایی، انواع پروبیوتیک‌ها و نیز ترکیبات طبیعی با منشا گیاهی می‌باشد.

افزایش معنی‌داری ($p<0.05$) در سطح ایمنوگلبولین IgM در ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان تحت تیمار مکمل غذایی سیلی‌مارین در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نگردید. David و همکاران در سال ۲۰۰۱ نشان دادند که افزودن مخلوطی از دانه آفتاب‌گردان و مکمل ویتامینی به جیره غذایی ماهی سرماری (*Channa striata*) موجب افزایش آنتی‌بادی و افزایش مقاومت این ماهی نسبت به *Aphanomyces invadans* می‌شود. افزودن مکمل غذایی حاوی عصاره گیاهی *Catharanthus roseus* جیره غذایی ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) موجب افزایش پاسخ ایمنی این ماهی گردید (Nguyen *et al.*, 2002).

تغییرات سطح فعالیت لیزوزیم در پلاسمای ماهیانی که با مکمل غذایی سیلی‌مارین تغذیه گردیدند در مقایسه با ماهی‌های گروه کنترل معنی‌دار ($p<0.05$) نبود، در حالی که افزایش معنی‌دار در سطح فعالیت لیزوزیم در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) که با مخلوطی از داروهای گیاهی طب سنتی چین تغذیه شده، گزارش شده است (Jian and Wu, 2002). سطح فعالیت پراکسیداز در تیمارهای آزمایشی، بویژه در ماهیان تغذیه شده با مکمل غذایی سیلی‌مارین (۴۰۰ میلی‌گرم سیلی‌مارین به ازای هر کیلوگرم غذا)، بطور معنی‌داری افزایش ($p<0.05$) یافت، همچنین علیرغم افزایش نسبی سطح کمپلمان تام در این ماهی‌ها در مقایسه با ماهی‌های گروه کنترل، اختلاف معنی‌داری($p<0.05$) مشاهده نگردید.

تقویت سیستم ایمنی ماهی دم زرد ژاپنی (*Seriola quinqueradiata*) که با مکمل دارویی حاوی عصاره گیاهی *Quillaja saponin* تغذیه شده بود نیز موید این امر است (Ninomiya *et al.*, 1995). استفاده از عصاره گیاهی گیاهان دارویی *Andrographis paniculata*، *Rheum officinale*، *Lonicera japonica*، *Isatis indigotica* در رژیم غذایی ماهی کپور موجب تقویت سیستم ایمنی آنها گردید (Chen *et al.*, 2003).

استفاده از پودر زردچوبه و سیر در جیره غذایی لارو کپور ماهی هندی (*Catla catla*) موجب افزایش مقاومت آن نسبت به بیماری و در نتیجه افزایش نرخ بقای آن در دوره پرورشی گردید (Dey and Chandra, 1995). براساس نتایج تحقیقات بدست آمده، استفاده توام از عصاره گیاهان دارویی و واکسیناسیون ماهی‌ها می‌تواند موجب افزایش ایمنی اختصاصی آنها در مقابل بسیاری از عوامل باکتریایی بیماری‌زا از جمله *A.hydrophila* گردد (Guojun Yin *et al.*, 2009).

علیرغم عدم افزایش معنی‌دار سطح ایمنوگلبولین‌ها، سطح کمپلمان تام و سطح فعالیت لیزوزیم در پلاسمای ماهی‌های تحت تیمار سیلی‌مارین در مقایسه با ماهیان گروه کنترل و همچنین افزایش سطح فعالیت پراکسیداز در ماهیانی تیمارهای آزمایشی، بویژه در ماهیانی که با مکمل غذایی سیلی‌مارین (۴۰۰ میلی‌گرم سیلی‌مارین به ازای هر کیلوگرم غذا) تغذیه شده‌اند، می‌توان چنین استباط کرد که عصاره سیلی‌مارین نه تنها تاثیر سوئی بر سیستم ایمنی نداشته، بلکه می‌تواند آثار مثبتی در افزایش سطح توان سیستم ایمنی ماهیان داشته باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات جناب آقای مهندس عاشوری و سرکار خانم مهندس موسوی کارشناسان آزمایشگاه شیلات دانشگاه تهران که در طی انجام کلیه مراحل کار مساعدت لازم را بعمل آوردند، قدردانی می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

ابراهیم زاده موسوی، ح.ع.، شریف روحانی، م.، خسروی ع.، مهرابی، ی. و آخوندزاده بستی، ا.، ۱۳۸۵. ارزیابی کاربرد اسانس اوکالیپتوس (*Eucaliptus camaldolensis Dehnh.*) در کنترل آلودگی های قارچی تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان. مجله گیاهان دارویی پاییز ۱۳۸۵; ۵ (۲۰):۴۲-۴۷.

اخلاقی، م. و انبارکی مطلق، م.، ۱۳۸۳. تغییرات فاگوسیتوز در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به دنبال استفاده از محرک‌های ایمنی کوئیلآ (Quil-A) و لوامیزول (Levamisole). مجله علمی شیلات ایران، شماره ۱۳، جلد ۳، صفحات ۱-۱۲.

جعفریان دهکردی، ع.، قنادی، ع. و کرامتی، ن.، ۱۳۸۱. اثرات گل ارونه بر ایمنی سلولی در موش سوری. مجله پژوهش در علوم پزشکی، جلد ۷، شماره ۴، پی‌درپی ۲. صفحات ۱۱۵-۱۲۰.

خسروی، ع.، فرانکو، م.، شکری، ح. و یحیی رعیت، ر.، ۱۳۸۶. ارزیابی اثرات اسانس‌های آویشن شیرازی، ژرانیوم پلارگونیوم، مورد و لیمو بر روی عملکرد سیستم ایمنی در حیوانات آزمایشگاهی. مجله تحقیقات دامپزشکی، دانشگاه تهران. شماره ۶۴، سال چهارم. صفحات ۱۱۹-۱۲۳.

رضایی‌پور، ر.، کمالی‌نژاد، م.، کاظمی فروز، ف. و فدایی، ش.، ۱۳۸۲. بررسی اثرات چهار گیاه دارویی بر سیستم ایمنی سلولی. مجله علوم پزشکی، جلد ۱، شماره ۲، پی‌درپی ۲. صفحه ۷۳-۷۸.

رضوی، س. م.، عزیزالهی، ب، و رحیمی، ه.، ۱۳۸۵. بررسی اثر ضد ویروسی عصاره سیر بر روی هرپس سیمپلکس ویروس با استفاده از روش کشت سلولی. مجله دانشکده دانداپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۲۴، شماره ۱، صفحه ۸۶-۹۳.

سعیدنیا، س.، گوهری، ا. ر.، گوهری، م. ر، مرادی افراپلی، ف.، لطفی مالدار، ف. و حاجی آخوندی، ع.، ۱۳۸۴. بررسی اثرات سمیت سلولی گیاهان آشیلا تالاگونیکا بوئیز (*Achillea talagonica* Boiss) و آشیلا تینوئی فولیا (*A. tenuifolia* Lam) لام به روش ارزیابی سمیت سلولی میگوی آب شور (Brine shrimp cytotoxicity). مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دوره پانزدهم.

طاهرزاده، م.، زندی، ک.، یعقوبی، ر.، تاج‌بخش، س. و راستیان، ز.، ۱۳۸۷. اثر ضد ویروسی گیاه حرا (*Avicennia marina* .Forssk. Vieh) بر روی ویروس پولیو در کشت سلولی. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۴، شماره ۱، صفحه ۳۸-۴۶.

منافی‌فر، ر.، ملکی، ر.، آتشبار، ب. و آق، ن.، ۱۳۸۵. استفاده از عصاره دانه گیاه *Azadirachta indica* علیه مژکداران تک سلولی مهاجم در محیط پرورش متراکم جلبک تک سلولی *Dunaliella tertiolecta* . مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، شماره ۷۱. صفحه ۸۲-۸۸.

Banaee, M., Sureda, A., Mirvagefei, A. R. and Rafei, G. R., ????. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol Biochem. DOI 10.1007/s10695-011-9486-z*. (Article in press)

Chen, X., Wu, Z., Yin, J. and Li, L., 2003. Effects of four species of herbs on immune function of *Carassius auratus gibelio*. J Fish Sci China. 10:36–40

David, J. C. M., Jaree, P., James, H. L., Somkiat, K., Kim, D. T. and Alexandra, A., 2001. Immunostimulation of striped snakehead Channa striata against epizootic ulcerative syndrome. Aquaculture 195, 1 – 15.

Dehmlow, C., Erhard, J. and de Groot, H., 1996. Inhibition of kupffer cell functions as an explanation for hepatoprotective properties of silibinin. Hepatlogy. 23: 749-754.

Dey, R. K. and Chandra, S., 1995. Preliminary studies to raise disease resistant seed (fry) of Indian major carp, Catla catla (Ham.) through herbal treatment of spawn. Fish. Chimes, 23–25 (March).

Elgayyar, M., Draughon, F. A., Golden, D. A. and Mount, J. R., 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms, J. Food Prot. 64, 1019 -1024.

Fiebrich, F. and Koch, H., 1979. Silymarin, an inhibitor of lipoxygenase. Experienta. 1979; 35: 1548-1560.

Guojun Yin, L., Ardo, K. D., Thompson, A., Adams, Z., Jeney, G. and Jeney., 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

Gvindachari, T. R., Suresh, G., Gopalakrishnan, G., Masilamani, S. and Banumathi, B., 2000.

www.SID.ir

Archive of SID

Ninomiya, M., Hatta, H., Fujiki, M., Kim, M., Yamamoto, T. and Kusuda, R., 1995. Enhancement of chemotactic activity of yellowtail (Seriola quinqueradiata) leucocytes by oral administration of quillaja saponin. Fish and Shellfish Immunology 5:325-8.

Wang, M. J., Lin, W. W., Chen, H. L., Chang, Y. H., Ou, H. C., Kuo, I. S., Hong, J.S. and Jeng, K.C., 2002. silymarin protects dompaminergic neurons against lipopolysaccharide- induced neurotoxicity by inhibiting microglia activation. Eur. J. Neurosci. Dec; 16 (11): 2103-2112.

Zou, C. G., Agar, N. S. and Jones, G. L., 2001. Oxidative insult to human red blood cells induced by free radical inititor AAPH and its inhibition by a commercial antioxidant mixture. Life. Sci. 69: 75-86.

Antifungal activity of some tetranortriterpenoids, Fitoterapia, Vol. 71, 317-320.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. and Aruoma, O. I., 1987. The deoxyribose method: A simple "test-tube" assay for determination of rate constant for reactions of hydroxyl radicals. Anal. Biochem., 165: 215-219.

Jian, J. and Wu, Z., 2002. Effect of Chinese herbal medicine on non-specific immunity of Jian common carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). J Dalian Fish Univ 17:114–9.

Nguyen, T. T. T., Mukherjee, S. C. and Pani, P. K., 2002. Studies on the immunostimulatory effect of certain plant extracts on fish. Abstracts: AH-13, The Sixth Indian Fisheries Forum, Mumbai, India: p. 153.

www.SID.ir