مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

تأثیر تجویز عصاره بومادران (*Achillea millefolium* L.) بر پارامترهای بیوشیمیایی خون کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) آلوده شده به باکتری *Aeromonas hydrophila*

مهدی بنایی*، بهزاد نعمت‌دوست حقی، محمد محیسنی، بهادر قلیزاده زارع توانا

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء (ص) بهبهان

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۴/۰۲/۱۶
اصلاح: ۹۴/۰۳/۱۶
پذیرش: ۹۴/۰۳/۱۸

کلمات کلیدی:
آئروموناس هیدروفیلا
آنزیم
بومادران
کپور معمولی

چکیده

در این مطالعه، تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره بومادران (*Achillea millefolium* L.) در غلظت‌های ۵۲، ۱۰۴ و ۲۰۸ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی همراه با جیره غذایی بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی کپور آلوده شده به *Aeromonas hydrophila* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد زمانی که ماهی‌ها با جیره حاوی عصاره بومادران تغذیه شدند، نرخ مرگ و میر کاهش یافت. سطح فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز، کراتین فسفوکیناز و آلکالین فسفاتاز در خون ماهی‌های آلوده شده با غلظت‌های پایین باکتریایی ($۰/۵\times۱۰^{۶}$ cfu.mL^{-1} و ۰/۲۵) تحت تیمار عصاره بومادران تنظیم گردید. در حالی که سطح فعالیت این آنزیم‌ها در ماهی‌های آلوده شده با غلظت‌های بالای باکتریایی به طور معنی‌داری افزایش یافت. سطح پروتئین کل در ماهی‌های تحت تیمار ۵۲ میلی‌گرم عصاره بومادران همراه با افزایش غلظت باکتری تزریق شده به ماهی‌ها، به طور معنی‌داری کاهش یافت. تزریق باکتری در غلظت ۱×۱۰^{۶} cfu.mL^{-1} موجب کاهش معنی‌داری گلبولین، تری‌گلیسرید و کلسترل ماهی‌ها گردید. اما سطح گلوکز، کراتینین و اوره در این ماهی‌ها به طور معنی-داری افزایش یافت. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تجویز عصاره بومادران (در غلظت‌های ۱۰۴ و ۲۰۸ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی‌ها) می‌تواند تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی کپور آلوده شده به غلظت‌های کمتر از ۱×۱۰^{۶} cfu.mL^{-1} آئروموناس هیدروفیلا را تنظیم کند.

مقدمــه

باکتری آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*)، یکی از شایع‌ترین باکتری‌های فرصت‌طلب در آب‌های شیرین است که در اثر افزایش بار مواد آلی در آب، جمعیت آن به سرعت افزایش می‌یابد و می‌تواند به عامل مسبب بیماری سپتی سمی هموراژیک در ماهی‌های آب شیرین، به ویژه گونه‌های پرورشی بدل گردد (Yin *et al*., 2009).

این باکتری‌ها می‌توانند با سنتز و ترشح فاکتورهای سمی و بیماری‌زا که شامل اندوتوکسین‌های مختلف و لیپوپلی‌ساکاریدها (LPS) است بر فاکتورهای سیستم ایمنی سلولی و خونی ماهی‌ها اثر گذارد (احمدی و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین، توانایی آئروموناس هیدروفیلا در سنتز و ترشح آنزیم‌های پروتئازی[1]، الاستازی[2]، لیستئیناز[3]، آمیلاز[4]، لیپاز، ژلاتیناز[5]، کیتیناز[6]،

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Mahdibanaee@yahoo.com

[1] Proteases
[2] Elastase
[3] Lecithinase
[4] Amylase

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]

همولیزین و انتروتوکسین‌ها سبب شده تا آنها از قابلیت بالایی برای ایجاد عفونت عمومی و داخلی، التهاب و ایجاد جراحات جلدی برخوردار باشند (احمدی و همکاران، ۱۳۹۰). لذا در صورت شیوع این باکتری در یک سیستم پرورشی و عدم توجه به درمان و پیشگیری ممکن است میزان مرگ و میر ماهی‌ها به طور فزاینده‌ای افزایش یابد (Ahmed and Shoreit, 2001; Gamal *et al.*, 2002).

اگرچه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند در کنترل روند بیماری و بهبود ماهی‌ها مؤثر باشد، اما استفاده بیش از حد از این ترکیبات ممکن است به آلوده شدن محیط‌زیست منجر شود؛ زیرا ورود آنتی‌بیوتیک‌ها به محیط‌زیست پیرامون استخرهای پرورش آبزیان می‌تواند بر فون و فلور اکوسیستم اثر گذارد. افزایش مقاومت دارویی باکتری به آنتی‌بیوتیک‌ها و نیز تجمع زیستی این ترکیبات در بافت‌های خوراکی ماهی‌ها، از دیگر پیامدهای استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها است؛ که تهدیدی جدی برای مصرف‌کنندگان تلقی می‌شود (Nafisi Bahabadi *et al.*, 2014).

لذا تحقیق برای دست‌یابی به راه‌کاری امن‌تر و کم‌هزینه‌تر، می‌تواند این مشکلات را مرتفع نماید. در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی به منظور تهیه واکسن‌های تجاری به ویژه واکسن‌های نوترکیب بر علیه این پاتوژن صورت گرفته است که علی‌رغم موفقیت‌آمیز بودن برخی از این پژوهش‌ها، هنوز تا تولید واکسن مناسب در مقیاس تجاری راهی بس دراز مانده است. باکتری‌های *A. hydrophila* گونه‌ای هتروژن بوده و دارای آنتی‌ژن‌های متنوعی است؛ لذا تولید واکسن برای این گونه بسیار پیچیده و هزینه‌بر به نظر می‌رسد (Rao *et al.*, 2006; Yin *et al.*, 2009). از این‌رو، شاید استفاده از ترکیبات محرک سیستم ایمنی با عنوان یک جایگزین مناسب برای داروهای سنتتیک، مواد شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها بتواند راه‌کار مناسب‌تری باشد (Dügenci *et al.*, 2003; Citarasu *et al.*, 2006)؛ زیرا ترکیبات محرک سیستم ایمنی برخلاف واکسن‌ها، ایمنی ذاتی و غیراختصاصی آبزیان را افزایش می‌دهند (Galina *et al.*, 2009).

برخی از ترکیبات و مشتقات گیاهی به عنوان یک منبع بالقوه از مواد محرک سیستم ایمنی در فارماکولوژی دامپزشکی در درمان و پیشگیری از بسیاری از بیماری‌های انگلی، باکتریایی، قارچی و حتی ویروسی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Nafisi Bahabadi *et al.*, 2014). در دهه‌های اخیر، نیز استفاده تجاری از برخی از گیاهان در صنعت آبزی‌پروری به عنوان ترکیبات محرک رشد، محرک ایمنی، ترکیبات ضدمیکروبی و نیز مکمل غذایی در خیلی از نقاط دنیا، کم و بیش مرسوم شده است (Galina *et al.*, 2009).

گیاه بومادران (*Achillea millefolium* L.)، گیاهی دارویی با خواص ضدالتهابی (Karabay-Yavasoglu *et al.*, 2007)، ضد درد، آنتی‌اکسیدانی (Vitalini *et al.*, 2007; Ardestani and Yazdanparast, 2007)، ضد رادیکالی (Nickavar *et al.*, 2006)، ضد میکروبی (Karamenderes and Apaydin, 2003; Magiatis *et al.*, 2002; Mazandarani *et al.*, 2007)، ضد انگلی (خلیلی دهکردی و همکاران، ۱۳۸۹)، ضد قارچی (آیت‌الهی موسوی و همکاران، ۱۳۷۵) است؛ که در طب سنتی ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد. لذا با توجه به خواص فوق الذکر این گیاه می‌تواند کاندیدای مناسبی جهت استفاده به عنوان یک داروی ضد باکتریایی در درمان و پیش‌گیری از عفونت‌های باکتریایی در ماهی‌های پرورشی باشد. مطالعه پیش‌بالینی این گیاه بر ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان می‌دهد که تجویز غلظت‌های کمتر از ۱۰ میلی‌گرم عصاره هیدروالکلی به ازای هر کیلوگرم غذا مسمومیت دارویی نیز نداشته و در مطالعات بالینی قابل تجویز است (Nafisi Bahabadi *et al.*, 2014).

از این‌رو این مطالعه با هدف بررسی تأثیر دارویی عصاره بومادران در درمان ماهی‌های آلوده به عفونت باکتریای *Aeromonas hydrophila* و همچنین تعیین غلظت مؤثره عصاره بومادران بر اساس تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی‌ها به عنوان یک شاخص بالینی صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

ماهی

۶۸۰ عدد ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio*، (با میانگین وزنی ۶/۷۵±۴۷/۸۵ گرم) از یک مزرعه خصوصی واقع در بهبهان تهیه گردید و پس از انتقال به آزمایشگاه در مخازن فایبرگلاس مجهز به هواده با تعویض روزانه ۴۰ درصدی آب توزیع

[5] Gelatinase
[6] Chitinase

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]

گردیدند. پیش از شروع آزمایش، ماهی‌ها به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایشگاهی دمای آب ۲±۲۴ سانتی‌گراد، دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، اکسیژن ۱±۶ میلی‌گرم بر لیتر، pH:۷/۶±۰/۲) سازگار گردیدند. در طی دوره‌ی سازگاری، ماهی‌ها با جیره‌ی تجاری کپور (تهیه شده از شرکت بیضا ۲۱ شیراز) به صورت دو بار در روز و معادل ۲٪ وزن بدن تغذیه شدند (جدول ۱). در پایان دوره سازگاری، از ۹ ماهی که به طور تصادفی صید شدند، خون‌گیری گردید و فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما اندازه‌گیری شد.

جدول ۱. آنالیز بیوشیمیایی جیره‌ی تجاری (شرکت بیضا ۲۱)

آنالیز جیره‌های غذایی	درصد
مواد خشک (٪)	۹۲/۵۴
انرژی متابولیسمی (Kcal/g)	۳۵۰/۲۴
پروتئین خام (٪)	۴۰/۲۲
عصاره‌ی اتری (لیپید) (٪)	۱۰/۴۹
خاکستر (٪)	۷/۸۶
فیبر خام (٪)	۵/۷۹
کربوهیدرات (٪)	۲۷/۵۶

عصاره‌گیری از گیاه بومادران

گیاه بومادران خشک از عطاری خریداری و با آسیاب برقی پودر گردید. بر اساس گزارش ارائه شده توسط عسگری و همکاران (۱۳۸۲)، میانگین میزان عصاره‌ی تام (عصاره‌ی آبی) و عصاره‌ی پلی‌فنلیک (عصاره‌ی هیدروالکلی) به دست آمده از ۱۰۰ گرم بومادران خشک به ترتیب ۰/۲۰۸ ± ۱۶/۱۳۳ گرم و ۰/۲۰۸±۱۲/۳۶۷ گرم است. لذا پس از الک کردن پودر بومادران ۱۰۰ گرم از آن وزن گردید و با ۳۰۰ سی‌سی الکل اتیلیک و ۳۰۰ سی‌سی آب مقطر (به نسبت ۱ به ۱) مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مدت ۴۸ ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار داده شد. سپس، عصاره هیدروالکلی به وسیله کاغذ صافی، صاف گردید. سپس با قرار دادن عصاره هیدروالکلی در انکوباتور با دمای ۵۰ درجه‌ی سانتیگراد، عصاره تغلیظ و در نهایت عصاره خشک تهیه گردید.

تعیین غلظت کشنده ۵۰ درصد از ماهی‌ها (LD_{50}) تحت تیمار عصاره گیاه دارویی بومادران

برای تعیین۵۰ درصد کشندگی عصاره گیاه دارویی بومادران، ۶ غلظت مختلف از عصاره گیاهی انتخاب شد. ۱۸۰ عدد ماهی در قالب ۷ تیمار و سه تکرار به مدت ۹۶ ساعت در معرض دارو (به صورت خوراکی) قرار گرفتند. میزان مرگ و میر ماهیان در هر ۲۴ ساعت به طور جداگانه ثبت گردید. پس از پایان ۴ روز (۹۶ ساعت) مقدار عددی غلظت کشنده ۵۰ درصدی (LD_{50}) تحت تیمار دارو برای ماهیان تعیین شد.

سویه‌ی بیماری‌زای باکتری

سویه بیماری‌زای *A. hydrophila* (ATCC:7965) به صورت خشک شده (لیوفیلیزه)، از کلکسیون میکروبی انستیتو پاستور ایران تهیه و در شرایط استریل در محیط کشت خون مایع شرکت بهار افشان (Blood culture) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در انکوباتور شیکردار کشت گردید. سپس سوسپانسیون باکتری به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و ذخیره‌ی باکتریایی لازم پس از دو بار شستشو با محلول بافر فسفات (۰/۰۴۱ مول بر لیتر فسفات سدیم و ۰/۰۲۶ مول بر لیتر فسفات پتاسیم) با pH: ۷/۲ (PBS مرک آلمان)، تهیه گردید. جهت شمارش باکتری‌ها از لام هموسیتومتر استفاده گردید. مازاد محلول باکتریایی کشت نیز در محلول استاندارد حاوی ۰/۸۵٪ نمک و گلیسرول ۲۰٪ در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری و در طی دوره‌ی آزمایش جهت تهیه محلول باکتریایی به صورت تازه مورد استفاده قرار گرفت. ماهی‌ها به روش تزریق درون صفاقی با باکتری‌ها عامل عفونت‌زا آلوده گردیدند.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]

تعیین غلظت LD_{50} باکتری آئروموناس هیدروفیلا

برای تعیین۵۰ درصد کشندگی باکتری آئروموناس هیدروفیلا، ۵ غلظت از باکتری به روش مک فارلن تهیه شد و به صورت داخل صفاقی به ماهیان کپور تزریق گردید. آزمایش در شش تیمار و سه تکرار (شامل ۱۵۰ ماهی) انجام گرفت (پس از ده روز) مقدار عدد غلظت کشنده ۵۰ درصدی (LD_{50}) تحت باکتری تعیین شد. در این روش ابتدا ۶ رقت از باکتری (10^{9} و 10^{8}، 10^{7}، 10^{6}، 10^{5}) و یک تیمار شاهد، به صورت تزریق صفاقی به ماهیان تزریق گردید. در یک دوره ۱۰ روزه میزان تلفات ماهیان ثبت گردید. سپس مقدار عددی غلظت LD_{50} باکتریایی محاسبه شد.

مواجهه ماهی‌های تحت تیمار عصاره دارویی با باکتری آئروموناس هیدروفیلا

سپس غلظت‌های مختلف معادل۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ درصدی غلظت‌های LD_{50} باکتری و چند غلظت مختلف معادل ۲۰، ۱۰ و ۵ درصد غلظت کشنده ۵۰ درصدی (LD_{50}) تحت تیمار عصاره دارویی برای گونه مورد نظر نیز انتخاب گردید. در مرحله بعد آزمایش (۳۲۴ ماهی) در قالب ۹ تیمار با ۳ تکرار و با طرح آزمایش فاکتوریل به طور همزمان با باکتری آلوده شده و همزمان با غذای حاوی نسبت‌های مختلف عصاره بومادران تحت درمان قرار گرفتند (هر مخزن شامل ۱۲ ماهی)؛ پس از گذشت ۱۰ روز میزان بقای ماهی‌ها تعیین گردید. در طی این دوره علائم بالینی نیز مشاهده و ثبت شد. در طی دوره‌ی آزمایش ماهی‌ها با جیره‌ی تجاری کپور (تهیه شده از شرکت بیضا ۲۱ شیراز) حاوی عصاره بومادران به صورت دو بار در روز و معادل ۲٪ وزن بدن تغذیه شدند. در پایان دوره‌ی آزمایش ماهیان باقی‌مانده در هر تیمار صید و پس از بی‌هوش نمودن آنها با محلول پودر گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، از ساقه‌ی دمی آنها با استفاده از سرنگ‌های خلاءدار حاوی ماده‌ی ضد انعقاد هپارین خون‌گیری شد. پس از خون‌گیری، نمونه‌های خون جهت استحصال پلاسما، در دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. پلاسمای به دست آمده نیز تا انجام مراحل آزمایش‌های بیوشیمیایی در فریزر ۲۵- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید.

فاکتورهای بیوشیمیایی خون

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون با استفاده از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون و با دستگاه اسپکتروفتومتری UV/Vis (مدل ۲۱۰۰ یونیکو آمریکا) صورت گرفت. سطح پروتئین تام پلاسما بر اساس واکنش بیوره و در طول موج ۵۴۰ نانومتر، آلبومین پلاسما بر اساس واکنش برموکرزول‌گرین و در طول موج ۶۳۰ نانومتر، گلبولین پلاسما بر اساس نسبت آلبومین از پروتئین تام پلاسما (Johnson *et al*., 1999)، گلوکز پلاسما بر اساس روش آنزیمی گلوکز اکسیداز و در طول موج ۵۰۰ نانومتر، سطح کلسترول پلاسما نیز به روش آنزیمی (CHO-PAP) در طول موج ۵۱۰ نانومتر و تری‌گلیسرید بر اساس روش آنزیمی GPO-PAP و در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Thomas, 1998). کراتینین به روش Jaffe و پس از واکنش با اسید پیکریک در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Foster-Swanson *et al*., 1994). سنجش اوره در پلاسما بر اساس روش هیدرولیز اوره به وسیله آنزیم اوره‌آز و واکنش آمونیاک تولید شده با NADH در طول موج ۳۴۰ نانومتر انجام شد (Tietz, 1995). سطح فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز پلاسما بر اساس مقدار مصرف NADPH و تبدیل آن به NAD^{+} در طول موج ۳۴۰ نانومتر، لاکتات دهیدروژناز پلاسما بر اساس تبدیل پیروات به لاکتات در طول موج ۳۴۰ نانومتر، آلکالین فسفاتاز بر اساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به نیتروفنول و فسفات و در طول موج ۴۰۵ نانومتر تعیین و بر اساس میزان جذب نوری OD و فرمول ارائه‌شده در دستورالعمل کیت‌ها محاسبه گردید (Moss and Henderson, 1999).

تجزیه و تحلیل آمار

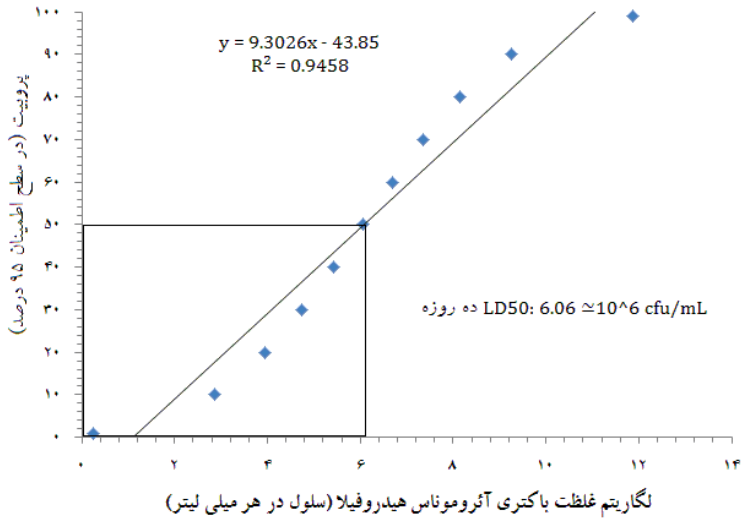
[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]

تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) انجام گرفت. نرمال بودن داده‌ها نیز بر اساس آزمون Kolmogorov-Smirnov Normality Test با استفاده از نرم افزار SPSS 22 انجام و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون توکی (HSD) در سطح اطمینان ۹۹٪ (α = ۰/۰۱) صورت گرفت.

نتایـج

اگرچه در غلظت باکتریایی $۱۰^{۵}$ سلول در هر میلی‌لیتر میزان مرگ و میر تقریباً ۳۰ درصد بود، اما با افزایش غلظت باکتری تزریق شده به ماهی‌ها تا $۱۰^{۹}$ سلول در هر میلی‌لیتر میزان مرگ و میر در طی ۱۰ روز پس از ایجاد عفونت تجربی به بیش از ۹۳ درصد افزایش یافت. میزان غلظت LD50 باکتری آئروموناس هیدروفیلا نیز $۱۰^{۶}$ سلول در هر میلی‌متر محاسبه گردید (شکل ۱).



شکل ۱. غلظت ۵۰ درصدی حد کشندگی باکتری آئروموناس هیدروفیلا برای ماهی کپور

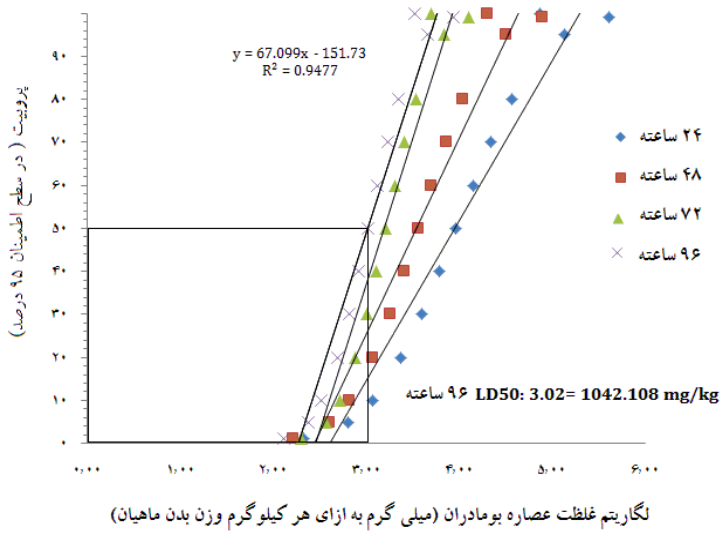
تیرگی پوست، جراحات پوستی، از بین رفتن فلس‌ها و باله‌ی دمی، هیپرتروفی آبشش‌ها، خونریزی در سطح آبشش‌ها و التهاب کبدی از مهم‌ترین تغییرات آسیب‌شناسی است که در بین ماهی‌های آلوده‌شده به باکتری *A. hydrophila* دیده شد.

با توجه به میانگین وزن ماهی‌ها و در نظر گرفتن مقدار غلظت کشنده ۵۰ درصدی (LD_{50}) عصاره بومادران (شکل ۲)، ماهی هر گروه به ترتیب باید روزانه معادل ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد غلظت کشنده ۵۰ درصدی (LD_{50})، یعنی به میزان ۵۲، ۱۰۴ و ۲۰۸ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دارو دریافت نمایند. در صورتی که به طور تقریبی در هر مخزن ۶۰۰ گرم ماهی وجود دارد که بایستی روزانه معادل ۲ درصد وزن زنده (۱۲ گرم غذا) تغذیه شوند، چنین نتیجه گرفته می‌شود که روزانه بایستی در هر سه گروه دارویی به ترتیب معادل ۳۱/۲، ۶۲/۴ و ۱۲۴/۸ میلی‌گرم عصاره به انضمام در نظر گرفتن حداقل ۱۰ درصد پرت دارویی با ۱۲ گرم غذا مخلوط و به ماهی‌ها خورانده شود. در جدول ۱، فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی‌ها قبل از تزریق باکتری و تیمار با عصاره بومادران ارائه شده است.

در زمان تیمار ماهی‌ها با غلظت‌های مختلف عصاره بومادران و چالش با باکتری آئروموناس هیدروفیلا، تنها ۳ مورد مرگ و میر در ماهی‌هایی که با بالاترین غلظت باکتری (۱×۱۰^{۶} cfu/mL) آلوده شدند و تحت تیمار کمتر غلظت بومادران قرار گرفتند و ۱ مورد نیز در ماهی‌های تحت تیمار $۰/۵\times۱۰^{۶}$ cfu/mL آئروموناس هیدروفیلا و جیره حاوی ۵۲ میلی‌گرم عصاره بومادران در طول دوره آزمایش مشاهده گردید. به استثنای یک مورد از ماهی‌های تحت تیمار بالاترین غلظت باکتری و کمترین غلظت عصاره بومادران، هیچ‌گونه علائم ظاهری و بالینی مبنی بر بروز بیماری و عفونت عمومی در زمان تشریح در ماهی‌ها مشاهده نگردید. با این حال، تغییر در فاکتورهای بیوشیمیایی شرایط فیزیولوژیکی سلول‌ها و بافت‌های درگیر را به طور بهتری بیان می‌کنند (جدول ۳-۵).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]



شکل ۲. غلظت ۵۰ درصدی حد کشندگی عصاره بومادران برای ماهی کپور

جدول ۱. دامنه طبیعی سطح فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی‌های کپور پیش از شروع تیمار با باکتری و عصاره بومادران

قبل از تزریق باکتری و تیمار با عصاره بومادران	فاکتورهای بیوشیمیایی
۴۲/۰۲±۵/۹۵	آسپارتات آمینوترانسفراز (U/L)
۹/۸۲±۱/۱۶	آلانین آمینوترانسفراز (U/L)
۱۳۸/۳۳±۱۲/۹۴	لاکتات دهیدروژناز (U/L)
۲۳۴/۸۶±۱۹/۹۴	کراتین فسفوکیناز (U/L)
۷۱/۶۹±۳/۰۵	آلکالین فسفاتاز (U/L)
۵۸/۷۴±۴/۵۳	گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
۳/۸۱±۰/۳۴	پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر)
۱/۹۷±۰/۳۹	آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر)
۱/۸۵±۰/۶۷	گلبولین (گرم بر دسی‌لیتر)
۱۳۷/۰۲±۱۵/۹۳	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
۲۱۹/۸۷±۱۵/۷۲	کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
۰/۸۶±۰/۱۴	کراتینین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
۳/۳۷±۰/۵۸	اوره (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)

تغییرات در سطح فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، لاکتات‌دهیدروژناز، کراتین‌فسفوکیناز و آلکالین‌فسفاتاز در پلاسمای ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره بومادران و باکتری آئروموناس هیدروفیلا در جدول ۲ ارائه‌شده است. سطح فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در ماهی‌های تحت تیمار بالاترین غلظت باکتری آئروموناس هیدروفیلا (۱×۱۰^{۶} cfu/mL) در گروه‌هایی که با جیره حاوی ۵۲ و ۱۰۴ میلی‌گرم عصاره بومادران به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر از ماهی‌هایی است که با کمترین غلظت باکتری آلوده‌شده‌اند و تحت تیمار ۵۲ و ۱۰۴ میلی‌گرم عصاره بومادران قرار گرفته‌اند.

نتایج حاکی از افزایش معنی‌داری در سطح فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در ماهی‌های تحت تیمار بالاترین غلظت باکتری آئروموناس هیدروفیلا (۱×۱۰^{۶} cfu/mL) و جیره حاوی ۵۲ و ۱۰۴ میلی‌گرم عصاره بومادران در مقایسه با دیگر گروه‌ها است؛ اما

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]

روند تغییرات در سطح فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در ماهی‌های آلوده‌شده به بیشترین غلظت باکتریایی که تحت درمان ۲۰۸ میلی‌گرم عصاره بومادران قرار گرفتند، مشابه با ماهی‌های مبتلا به غلظت‌های پایین‌تر باکتری است.

جدول ۳. سطح فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، لاکتات‌دهیدروژناز، کراتین‌فسفوکیناز و آلکالین‌فسفاتاز در پلاسمای ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره بومادران و باکتری آئروموناس هیدروفیلا

غلظت دارو (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن ماهی)	غلظت باکتری (cfu/mL)	آسپارتات آمینوترانسفراز (U/L)	آلانین آمینوترانسفراز (U/L)	لاکتات دهیدروژناز (U/L)	کراتین فسفوکیناز (U/L)	آلکالین‌فسفاتاز (U/L)
۵۲ میلی‌گرم عصاره بومادران	۰/۲۵×۱۰^{۶}	۳۷/۲۴±۴/۳۴^{a}	۱۵/۰۳±۱/۳۶^{a}	۱۶۴/۱۶±۲۱/۲۵^{a}	۲۲۴/۵۴±۲/۶۴^{a}	۸۸/۸۴±۲۱/۶۲^{ab}
	۰/۵۰×۱۰^{۶}	۴۰/۹۰±۴/۲۸^{a}	۱۵/۵۱±۱/۱۵^{a}	۱۷۳/۳۶±۲۳/۱۲^{a}	۲۲۴/۱۶±۳/۰۶^{a}	۸۹/۴۵±۱۱/۴۵^{ab}
	۱×۱۰^{۶}	۵۶/۵۴±۵/۲۱^{b}	۲۵/۸۸±۲/۳۰^{c}	۲۷۶/۸۶±۱۵/۵۵^{c}	۲۸۲/۶۵±۲/۵۷^{d}	۱۰۴/۱۶±۳۱/۲۷^{b}
۱۰۴ میلی‌گرم عصاره بومادران	۰/۲۵×۱۰^{۶}	۳۹/۸۴±۱/۴۳^{a}	۱۶/۵۴±۱/۷۵^{a}	۱۶۵/۴۹±۱۵/۷۵^{a}	۲۲۳/۳۷±۳/۰۵^{a}	۸۹/۴۵±۱۴/۴۴^{ab}
	۰/۵۰×۱۰^{۶}	۵۰/۲۵±۱۱/۹۰^{ab}	۱۶/۵۴±۲/۰۴^{a}	۱۷۷/۰۷±۱۵/۶۸^{a}	۲۲۵/۷۱±۳/۶۴^{a}	۸۲/۰۰±۱۹/۳۲^{ab}
	۱×۱۰^{۶}	۶۰/۰۶±۱۰/۰۹^{b}	۲۳/۸۲±۱/۸۷^{c}	۲۳۶/۴۴±۱۲/۴۶^{b}	۲۶۴/۹۹±۲/۰۵^{c}	۸۰/۸۷±۲۷/۴۴^{ab}
۲۰۸ میلی‌گرم عصاره بومادران	۰/۲۵×۱۰^{۶}	۴۷/۴۷±۴/۵۵^{ab}	۱۵/۲۲±۱/۱۵^{a}	۲۶۳/۸۳±۲۲/۰۶^{bc}	۲۳۸/۲۵±۲/۲۶^{b}	۷۳/۳۲±۱۶/۳۹^{a}
	۰/۵۰×۱۰^{۶}	۵۰/۰۷±۱۴/۸۱^{ab}	۲۰/۴۳±۲/۱۸^{b}	۲۳۵/۷۷±۱۲/۹۴^{b}	۲۳۷/۳۰±۲/۳۸^{b}	۷۳/۷۲±۱۱/۲۶^{a}
	۱×۱۰^{۶}	۴۸/۲۶±۵/۱۰^{ab}	۱۷/۴۴±۲/۳۲^{ab}	۲۴۹/۸۰±۲۰/۰۸^{bc}	۲۶۶/۲۷±۶/۷۵^{c}	۸۴/۵۵±۴/۰۸^{ab}

اگرچه فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در ماهی‌های آلوده به بالاترین غلظت باکتری در گروه‌های تحت درمان با ۵۲ و ۱۰۴ میلی‌گرم عصاره به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های دیگر تحت درمان غلظت مشابه دارویی است، با افزایش غلظت دارو تا سطح ۲۰۸ میلی‌گرم، سطح فعالیت این آنزیم نیز در ماهی‌های آلوده شده به باکتری آئروموناس هیدروفیلا، همچنین به طور معنی‌داری روند افزایشی نشان می‌دهد.

سطح فعالیت آنزیم کراتین‌فسفوکیناز به افزایش غلظت باکتری (۱×۱۰^{۶} cfu/mL)، در هر سه گروه تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره بومادران، افزایش معنی‌داری یافت.

با افزایش غلظت عصاره بومادران تا سطح ۲۰۸ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی، کاهش معنی‌داری در سطح فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در پلاسمای ماهی‌های تحت تیمار ۰/۲۵×۱۰^{۶} cfu/mL و ۰/۵۰×۱۰^{۶} باکتری آئروموناس در مقایسه با ماهی‌های مبتلا به ۱×۱۰^{۶} cfu/mL باکتری تحت درمان با ۵۲ میلی‌گرم عصاره بومادران مشاهده شد.

تغییرات در سطح پروتئین کل، آلبومین و گلبولین پلاسمای ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره بومادران و باکتری آئروموناس هیدروفیلا در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که تاثیر تجویز بومادران بر سطح پروتئین کل پلاسمای ماهی‌ها رابطه مستقیمی با غلظت عصاره بومادران و غلظت باکتری آئروموناس هیدروفیلا تزریق شده به ماهی‌ها دارد. تغییرات سطح پروتئین کل پلاسما نیز بر تغییرات سطح آلبومین و گلبولین تأثیر معنی‌دار و مستقیمی دارد. اگرچه تغییر معنی‌داری در پروتئین کل پلاسمای ماهی‌هایی که با جیره غنی شده با ۱۰۴ میلی‌گرم عصاره بومادران تغذیه شدند، مشاهده نگردید، اما سطح پروتئین کل در ماهی‌های تحت تیمار ۵۲ میلی‌گرم عصاره بومادران همراه با افزایش غلظت باکتری تزریق شده به ماهی‌ها، به طور معنی‌داری کاهش یافت. با افزایش غلظت باکتری تزریق شده به ماهی‌ها، سطح گلبولین به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. با این وجود روند مشخصی در تغییر سطح آلبومین ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف باکتری و عصاره بومادران دیده نشد.

تغییرات در سطح گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، کراتینین و اوره پلاسمای ماهیان تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره بومادران و باکتری آئروموناس هیدروفیلا در جدول ۴ ارائه‌شده است. به رغم تجویز غلظت‌های مختلف عصاره بومادران به

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]

ماهی‌های مبتلا به آئروموناس هیدروفیلا، سطح گلوکز در ماهی‌های آلوده به 1×10^{6} cfu/mL باکتری به طور معنی‌داری بیشتر از دیگر گروه‌ها است.

کاهش معنی‌دار سطح تری‌گلیسرید در پلاسمای ماهی‌های آلوده به 1×10^{6} cfu/mL باکتری تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره بومادران از مهم‌ترین تغییرات مشاهده شده در این آزمایش است.

جدول ۳. سطح پروتئین کل، آلبومین و گلبولین پلاسمای ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره بومادران و باکتری آئروموناس هیدروفیلا

غلظت دارو (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن ماهی)	غلظت باکتری (cfu/mL)	پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر)	آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر)	گلبولین (گرم بر دسی‌لیتر)
۵۲ میلی‌گرم عصاره بومادران	$0/25\times10^{6}$	$3/86\pm0/25^{c}$	$2/37\pm0/50^{b}$	$1/48\pm0/48^{b}$
	$0/50\times10^{6}$	$2/76\pm0/07^{a}$	$2/42\pm0/17^{b}$	$0/34\pm0/16^{a}$
	1×10^{6}	$2/55\pm0/36^{a}$	$2/25\pm0/39^{ab}$	$0/31\pm0/16^{a}$
۱۰۴ میلی‌گرم عصاره بومادران	$0/25\times10^{6}$	$3/23\pm0/28^{b}$	$1/93\pm0/46^{ab}$	$1/30\pm0/39^{b}$
	$0/50\times10^{6}$	$3/17\pm0/35^{b}$	$1/62\pm0/20^{a}$	$1/55\pm0/42^{b}$
	1×10^{6}	$3/21\pm0/10^{b}$	$2/45\pm0/31^{b}$	$0/75\pm0/30^{a}$
۲۰۸ میلی‌گرم عصاره بومادران	$0/25\times10^{6}$	$3/15\pm0/33^{b}$	$2/44\pm0/12^{b}$	$0/71\pm0/32^{a}$
	$0/50\times10^{6}$	$3/59\pm0/14^{c}$	$2/17\pm0/57^{ab}$	$1/42\pm0/58^{b}$
	1×10^{6}	$2/59\pm0/45^{a}$	$1/98\pm0/42^{ab}$	$0/61\pm0/22^{a}$

جدول ۴. سطح گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، کراتینین و اوره پلاسمای ماهیان تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره بومادران و باکتری آئروموناس هیدروفیلا

غلظت دارو (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن ماهی)	غلظت باکتری (cfu/mL)	گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	کراتینین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	اوره (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
۵۲ میلی‌گرم عصاره بومادران	$0/25\times10^{6}$	$54/56\pm5/17^{ab}$	$321/13\pm19/42^{d}$	$110/69\pm12/56^{bc}$	$1/36\pm0/21^{a}$	$14/54\pm1/82^{b}$
	$0/50\times10^{6}$	$47/38\pm8/68^{ab}$	$311/74\pm45/35^{d}$	$119/36\pm17/62^{bc}$	$1/95\pm0/15^{ab}$	$10/75\pm1/92^{a}$
	1×10^{6}	$74/91\pm6/39^{c}$	$187/95\pm7/39^{a}$	$84/56\pm11/67^{a}$	$2/37\pm0/36^{b}$	$22/76\pm2/86^{c}$
۱۰۴ میلی‌گرم عصاره بومادران	$0/25\times10^{6}$	$48/14\pm3/56^{ab}$	$264/48\pm22/48^{c}$	$124/80\pm19/79^{c}$	$1/37\pm0/07^{a}$	$9/84\pm1/27^{a}$
	$0/50\times10^{6}$	$57/87\pm11/15^{ab}$	$261/35\pm8/69^{c}$	$95/31\pm19/11^{ab}$	$1/65\pm0/46^{a}$	$14/47\pm1/94^{b}$
	1×10^{6}	$75/97\pm12/81^{c}$	$218/62\pm30/39^{a}$	$84/99\pm8/66^{a}$	$1/66\pm0/16^{a}$	$27/97\pm4/56^{d}$
۲۰۸ میلی‌گرم عصاره بومادران	$0/25\times10^{6}$	$62/05\pm12/55^{bc}$	$278/09\pm20/08^{c}$	$73/53\pm3/76^{a}$	$1/68\pm0/17^{a}$	$15/32\pm1/78^{b}$
	$0/50\times10^{6}$	$46/13\pm4/51^{a}$	$269/95\pm21/18^{c}$	$95/42\pm15/60^{ab}$	$1/98\pm0/83^{ab}$	$17/00\pm0/92^{b}$
	1×10^{6}	$75/22\pm9/88^{c}$	$228/18\pm27/22^{b}$	$74/57\pm13/40^{a}$	$1/98\pm0/29^{ab}$	$14/55\pm2/26^{b}$

نتایج آزمایش نشان می‌دهد که در ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های ۵۲ و ۱۰۴ میلی‌گرم عصاره بومادران، با افزایش غلظت باکتری تزریق‌شده به ماهی‌ها، سطح کلسترول خون به طور معنی‌داری کاهش یافته است.

افزایش معنی‌دار کراتنین در خون ماهی‌های آلوده به 1×10^{6} cfu/mL باکتری تحت تیمار ۵۲ میلی‌گرم عصاره بومادران از مهم‌ترین تغییرات مشاهده شده در این آزمایش است. سطح اوره خون در ماهی‌ها با افزایش غلظت باکتری تزریقی به طور معنی‌داری افزایش یافته است.

بحث

خاصیت دارویی و ضدباکتریایی بومادران، سبب شده تا این گیاه دارویی از جایگاه ویژه ای در طب سنتی برخوردار باشد. مطالعات داروشناسی صورت گرفته بر روی این گیاه دارویی در موش‌های آزمایشگاهی نیز خاصیت دارویی و ضدباکتریایی

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]

بومادران را تائید می‌کند (Yakhkeshi *et al*., 2012; Viegi *et al*., 2003). همچنین تأثیر ضدباکتریایی عصاره بومادران بر روی باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Bacillus cereus* و *Escherichia coli* در محیط کشت نیز به اثبات رسیده است (امجد و همکاران، ۱۳۹۰). از این‌رو این گیاه ممکن است در پیشگیری از برخی عفونت‌های باکتریایی رایج در ماهی‌های پرورشی نیز مؤثر باشد. اگرچه در مطالعات پیشین تأثیر پیش‌بالینی تجویز غلظت‌های مختلف عصاره بومادران بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان می‌دهد که استفاده از عصاره این گیاه امکان‌پذیر است (Nafisi Bahabadi *et al*., 2014)، اما برای اطمینان از اثر بخش بودن این گیاه دارویی بر ماهی‌های مبتلا به عفونت باکتریایی آئروموناس هیدروفیلا این مطالعه انجام گرفت.

در این مطالعه، پس از تعیین غلظت کشنده باکتری و عصاره بومادران، ماهی‌ها با ۳ غلظت مختلف از باکتری‌ها آلوده و به طور همزمان با ۳ غلظت مختلف از عصاره بومادران تحت درمان قرار گرفتند. اگرچه در اغلب مطالعات صورت گرفته بر روی تأثیر گیاهان دارویی در درمان و پیشگیری از عفونت‌های باکتریایی، معمولاً از یک دوره پیش‌درمان یاد می‌شود (Anusha *et al*., 2014)؛ اما با توجه به پیشینه مطالعاتی صورت گرفته بر روی تأثیر تجویز طولانی‌مدت گیاهان دارویی بر فاکتورهای بیوشیمیایی (Banaee *et al*., 2011; Nafisi Behabadi *et al*., 2014) و نیز به منظور آگاهی از تأثیر آنی و همزمان تجویز عصاره گیاهی بر ماهی مبتلا یا آلوده به عفونت باکتریایی، این مطالعه به این سبک و سیاق انجام گرفته است. کاهش یا کنترل تلفات در ماهی‌های آلوده‌شده به باکتری آئروموناس و همچنین عدم مشاهده علائم ظاهری و بالینی در این ماهی‌ها ظاهراً نشان‌دهنده تأثیر عصاره بومادران در درمان و پیشگیری از عفونت آئروموناس هیدروفیلا است. در عصاره‌ی بومادران، علاوه بر فلاونوئیدها، ترکیبات دیگر نظیر آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها، آنتراکینون‌ها و ترپن‌ها یافت می‌شود (Mothana *et al*., 2009; Stojanovic *et al*., 2005) که خاصیت ضدباکتریایی عصاره بومادران، به آنها نسبت داده می‌شود (Mothana *et al*., 2009; Eleyinmi, 2007; Yaghoubi *et al*., 2007; Stojanovic *et al*., 2005). کاهش نرخ مرگ و میر ماهی‌های آلوده شده به آئروموناس هیدروفیلا تحت درمان با عصاره گیاهی *Ixora coccinea* نیز گزارش شده است (Anusha *et al*., 2014). تجویز عصاره گیاهان *Cynodon dactylon*، *Aegle marmelos*، *Tinospora cordifolia*، *Picrorhiza kurooa* و *Eclipta alba* همراه با غذا نه تنها سبب کاهش مرگ و میر در میگوهای مبتلا به عفونت ویروسی لکه سفید گردید، بلکه از شیوع بیشتر عفونت ویروسی نیز پیشگیری نمود (Citarasu *et al*., 2006). اگرچه مکانیسم عمل ترکیبات فیتوشیمیایی در حذف پاتوژن‌ها ممکن است متفاوت باشد، اما در اغلب موارد ترکیبات موجود در اسانس و عصاره‌های گیاهی بر ساختار دیواره سلولی باکتری‌ها تاثیر می‌گذارند. ویژگی آب‌گریزی و چربی‌دوستی ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در اسانس‌ها زمینه نفوذ آنها در لایه فسفولیپیدی غشای سلولی را فراهم می‌سازد و این امر می‌تواند بر تراوایی غشای سلولی و نیز فعالیت‌های فیزیولوژیکی غشای سلولی اثر گذارد. همچنین می تواند با نفوذ در غشای اندامک‌های درون سلولی نظیر میتوکندری و ایجاد اختلال در عملکرد آنها و برهم زدن هوموستازی سلولی، زمینه مرگ سلولی را مهیا سازد. ویژگی‌های سمی مونوترپنیدها نیز می‌تواند با اثر بر عملکرد فیزیولوژیکی غشای سلولی سبب مرگ سلول‌های باکتریایی شود (محمودی و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین بسیاری از ترکیبات فیتوشیمیایی قادرند با ایجاد اختلال در عملکرد آنزیم‌های متصل به غشای سلولی و ایجاد وقفه در فرایند سنتز بسیاری از ترکیبات پلی‌ساکاریدی دیواره سلولی از رشد و تکثیر سلول‌های باکتریایی پیشگیری نمایند (Hammer *et al*., 2004).

آسیب‌های وارده به سلول‌ها در بافت‌های مختلف ماهی‌ها ناشی از افزایش اندوتوکسین باکتری آئروموناس هیدروفیلا می‌تواند نقش مؤثری در افزایش سطح آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در خون ماهی‌ها داشته باشد. از این‌رو افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در ماهی‌های تحت تیمار بالاترین غلظت باکتری آئروموناس هیدروفیلا (۱×۱۰^{۶} cfu/mL) را می‌توان به آسیب‌های وارده به غشای سلولی بافت‌های مختلف به ویژه بافت کبد، کلیه و آبشش ماهی‌ها نسبت داد. با این وجود تجویز عصاره بومادران به ویژه در بالاترین سطح متناسب با افزایش غلظت باکتری تزریقی ممکن است در تنظیم سطح فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز مفید باشد. افزایش سطح فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در خون ماهی‌های کپور هندی *Labeo rohita* مبتلا به عفونت آئروموناس هیدروفیلا گزارش شده است. در حالی که تجویز عصاره دانه گیاه *Achyranthes aspera* سبب بازگشت سطح فعالیت این آنزیم‌ها به سطح نرمال گردید (Rao *et al*., 2006).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]

ابتلای ماهی‌ها به عفونت باکتریایی ممکن است به بروز آسیب‌های شدید به بافت‌های مختلف بدن و اختلال در فرایندهای فیزیولوژیکی سلول‌ها نظیر ممانعت از فسفوریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری‌ها منجر گردد؛ که در چنین حالتی زمینه برای هیپوکسی سلولی، کاهش سطح تولید ATP و مرگ سلول‌ها فراهم می‌گردد. در چنین شرایطی دیگر اکسیداسیون مجدد NADH با اکسیژن از طریق زنجیره تنفسی میسر نیست. لذا پیروات به وسیله‌ی NADH و طی واکنش بیوشیمیایی که به وسیله‌ی آنزیم لاکتات دهیدروژناز کاتالیز می‌شود، به لاکتات احیا می‌گردد. به این ترتیب، از طریق اکسیداسیون مجدد NADH به‌وسیله‌ی لاکتات، فرایند گلیکولیز در غیاب اکسیژن ادامه می‌یابد (Murray *et al*., 2003). افزایش معنی‌دار سطح فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در ماهی‌های آلوده به بالاترین غلظت باکتری در گروه‌های تحت درمان با ۵۲ و ۱۰۴ میلی‌گرم عصاره نیز حاکی از آسیب وارده به غشای سلولی و نشت این آنزیم به داخل پلاسما است. با این حال افزایش معنی‌دار سطح فعالیت این آنزیم نیز در ماهی‌های آلوده‌شده به باکتری آئروموناس هیدروفیلا تحت تیمار به ۲۰۸ میلی‌گرم عصاره بومادران را نیز می‌توان به ادامه شرایط استرس‌زای ناشی از عفونت با باکتری آئروموناس هیدروفیلا نسبت داد.

افزایش معنی‌داری سطح فعالیت آنزیم کراتین‌فسفوکیناز در پلاسمای خون ماهی‌های آلوده‌شده به بالاترین غلظت باکتری (۱×۱۰^{۶} cfu/mL)، در هر سه گروه تحت تیمار غلظت‌های مختلف عصاره بومادران را می‌تواند حاکی از شدت آسیب وارده به بافت عضلانی ماهی‌ها باشد؛ اما آنچه که سبب افزایش سطح کراتین‌کیناز در پلاسمای این ماهی‌ها می‌شود به آسیب‌های وارده به غشاهای زیستی این سلول‌ها و آزاد شدن آنها در خون مربوط می‌شود (Banaee *et al*., 2011). از این‌رو افزایش سطح فعالیت این آنزیم در پلاسما می‌تواند نشان‌دهنده بروز نارسایی‌های قلبی، دیستروفی عضلانی، نارسایی کلیوی، بروز تشنج و آسیب شدید به سیستم عصبی مرکزی باشد (Banaee *et al*., 2013).

آلکالین‌فسفاتاز (ALP)، در اپی‌تلیوم مجاری صفراوی، سلول‌های کبدی و نیز در مخاط روده و کلیه‌ها یافت می‌شود (Murray *et al*., 2003). بالا بودن سطح آلکالین فسفاتاز در ماهی‌های آلوده‌شده با بالاترین غلظت باکتری که تحت تیمار ۵۲ میلی‌گرم عصاره بومادران نیز قرار داشتند را می‌توان به آسیب وارده به سلول‌های کبدی به‌ویژه در اپیتلیوم مجاری صفراوی و همچنین سلول‌های بافت روده ماهی‌ها نسبت داد.

کاهش یا عدم افزایش سطح فعالیت آنزیم‌ها در پلاسمای ماهی‌ها ممکن است ناشی از تأثیر فلاونوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره بومادران بر عملکرد فیزیولوژیکی غشای سلول‌ها در بافت‌های مختلف به‌ویژه بافت کبد باشد. در واقع نتایج ما نشان می‌دهد که عصاره‌ی بومادران می‌تواند پایداری غشای سلولی در بافت‌های مختلف ماهی‌های مبتلا به عفونت آئروموناس هیدروفیلا را افزایش دهد. بدین ترتیب از نشت آنزیم‌های درون‌سلولی به داخل خون جلوگیری نماید.

کاهش سطح سنتز پروتئین توسط کبد، سوء تغذیه و کاهش قابلیت جذب مواد غذایی به ویژه اسیدهای آمینه در روده ممکن است (Banaee *et al*., 2011) مهم‌ترین فاکتور در کاهش پروتئین کل در پلاسمای ماهی‌های تحت تیمار غلظت‌های بالای باکتری باشد. تغییرات سطح آلبومین و گلبولین نیز بازتابی از سطح پروتئین کل پلاسما است. با این وجود، کاهش گلبولین ممکن است مقاومت ماهی‌ها در برابر عفونت ناشی از آئروموناس هیدروفیلا را کاهش دهد.

افزایش سطح گلوکز در ماهی‌های آلوده به ۱×۱۰^{۶} cfu/mL باکتری آئروموناس هیدروفیلا، ممکن است نشان‌دهنده‌ی افزایش نیاز به انرژی جهت مقابله با تاثیر استرس‌زای ناشی از ابتلا به باکتری آئروموناس هیدروفیلا باشد. افزایش گلوکز خون همچنین نشان دهنده بروز اختلال در روند تنظیم قند خون و متابولیسم چربی‌ها و همچنین افزایش نرخ تجزیه گلیکوژن در کبد و عضلات ماهی‌ها می‌باشد (Acker and Nogueira, 2012). با این وجود، تأثیر ترکیبات موجود در عصاره بومادران بر مکانیسم‌های کنترل کننده جذب، ذخیره و متابولیسم گلوکز خون، موجب تنظیم سطح گلوکز خون ماهی‌ها در دیگر گروه‌های آزمایشی گردید.

کاهش سطح کلسترول و تری‌گلیسرید در ماهی‌های آلوده به بالاترین غلظت باکتری (۱×۱۰^{۶} cfu/mL) ممکن است ناشی از بروز آسیب به ریزپرزهای روده و اختلال در روند جذب اسیدهای چرب باشد. با این وجود، آسیب‌های وارده به کبد نیز ممکن است سطح سنتز کلسترول را کاهش دهد. بیوفلاونوئیدها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره بومادران (عسگری و همکاران، ۱۳۸۲؛ میرزایی و همکاران، ۱۳۸۹) ممکن است با کاهش احتمال پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلول‌های کبدی و

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]

روده از بروز آسیب‌های وارده به این بافت‌ها بکاهند؛ در نتیجه از کاهش بیش از حد سطح کلسترول و تری‌گلیسرید در خون ماهی‌های مبتلا به عفونت آئروموناس هیدروفیلا جلوگیری می‌کنند.

کراتینین یک محصول کاتابولیک کراتین‌فسفات عضلانی است که پس از آزاد شدن به داخل مایع خارج سلولی، از طریق کلیه‌ها دفع می‌گردد (Murray *et al*., 2003). لذا سطح کراتینین در نارسایی حاد یا مزمن کلیوی افزایش می‌یابد. افزایش سطح رادیکال‌های آزاد ناشی از ترشح اندوتوکسین‌های باکتریایی، ممکن است موجب بروز آسیب‌های جدی به گلومرول‌های کلیوی شده و همین امر زمینه‌ساز افزایش سطح کراتینین در پلاسمای ماهی‌ها بوده باشد. افزایش غلظت اوره در سرم خون ماهی‌ها می‌تواند به عنوان یک شاخص در بررسی اختلالات آبشش و کلیه ماهی‌ها تلقی شود (Bernet *et al*., 2001). این در حالی است که در دیگر گروه‌ها، تجویز عصاره بومادران توانسته با پیشگیری از آسیب وارده به بافت کلیه و آبشش از افزایش بیش از حد کراتنین و اوره در خون پیشگیری نماید.

در این مطالعه، تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی‌های تحت تیمار غلظت (۱×۱۰^{۶} cfu/mL)، باکتری آئروموناس هیدروفیلا نشان می‌دهد که تجویز عصاره بومادران در غلظت‌های مختلف ممکن است نتواند مانع از بروز آسیب به بافت‌های مختلف درگیر با عفونت باکتریایی گردد. این در حالی است که تجویز عصاره بومادران به ویژه در غلظت‌های ۱۰۴ و ۲۰۸ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن ماهی می‌تواند از افزایش بار باکتریایی و عفونت عمومی باکتریایی در غلظت‌های پایین‌تر از غلظت کشنده ۵۰ درصدی باکتری آئروموناس هیدروفیلا پیشگیری نماید.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح پژوهشی با کد ۹۲۱۵ بوده و با حمایت مدیریت محترم پژوهشی دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء (ص) بهبهان انجام شده است. بدین وسیله نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی و سپاس خود را از مسئولین ذی‌ربط اعلام می‌دارند.

منابـع

احمدی، ک. میرواقفی، ع.ر. بنایی، م. موسوی، م. ۱۳۹۰؛ مطالعه فاکتورهای خونی و آسیب‌شناسی بافتی ناشی از آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) در قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله شیلات (منابع طبیعی ایران). سال شصت و چهارم، شماره ۳، صفحات ۲۲۷-۲۱۷.

امجد، ل.، محمدی کمال آبادی، م.، محمدی سیچانی، م. ۱۳۹۰. فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی گل و برگ گیاه بومادران. مجله علوم پزشکی قم. سال پنجم، شماره ۳، صفحات ۵۶-۵۰.

آیت‌الهی موسوی، س. ا.، عبداللهی، ح.، کاظمی‌پور، ن. ۱۳۷۵. بررسی اثرات ضد درماتوفیتی عصاره متانولی ده گیاه دارویی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان. سال سوم، شماره ۳، صفحات ۱۲۴-۱۱۶.

خلیلی دهکردی، ب.، رفیعیان، م.، حجاری، س. ح.، یوسفی، ح. ع.، یکتائیان، ن.، شرانی بیدآبادی، ل. ۱۳۸۹. بررسی تاثیر عصاره‌های گیاهی افسنطین، بومادران و برگ گردو بر انگل تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت آزمایشگاهی. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. سال دوازدهم، شماره ۴، ویژه نامه طب تکمیلی، صفحات ۶۹-۶۲.

عسگری، ص.، نادری، غ. ع.، قنادی، ع. ر.، قاری‌پور، م.، گلبن، س. ۱۳۸۲. تاثیر گیاهان بابونه، بومادران و زالزالک بر افزایش مقاومت گلبول-های قرمز و حفاظت گروه‌های تیول (SH-) در مقابل مواد اکسید کننده. مجله گیاهان دارویی. سال دوم، شماره ۶، صفحات ۴۸-۴۱.

محمودی، ر.، تاجیک، ح.، فرشید، ا.ع.، احسانی، ع.، زارع، پ.، مرادی، م. ۱۳۹۰. تعیین ترکیبات شیمیایی و اثرات ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس. مجله ارمغان دانش. سال شانزدهم، شماره ۵ (۶۵)، صفحات ۴۱۲-۴۰۰.

میرزایی، ع.، اکبر تبار طوری، م.، صادقی، ه. ا.، شریفی، ب. ۱۳۸۹. ارزیابی میزان فنل تام و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بومادران، درمنه و بابونه. مجله ارمغان دانش. سال پانزدهم، شماره ۳، صفحات ۲۵۲-۲۴۳.

Acker, C.I., Nogueira, C.W. 2012. Chlorpyrifos acute exposure induces hyperglycemia and hyperlipidemia in rats. Chemosphere. 89(5): 602-608.

Ahmed, S.M., Shoreit, A.A.M. 2001. Bacterial hemorrhagic septicemia in *Oreochromis niloticus* at Aswan fish hatcheries. Assiut Veterinary Medical Journal. 45: 43-46.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]

Anusha, P., Thangaviji, V., Velmurugan, S., Michaelbabu, M., Citarasu, T. 2014. Protection of ornamental gold fish *Carassius auratus* against *Aeromonas hydrophila* by treating *Ixora coccinea* active principles. Fish & Shellfish Immunology. 36: 485-493.

Ardestani, A., Yazdanparast, R. 2007. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. Food Chemistry. 104(1): 21-29.

Banaee, M., Sureda, A., Mirvagefei, A.R., Ahmadi, K. 2013. Biochemical and histological changes in the liver tissue of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sub-lethal concentrations of diazinon**.** Fish Physiology and Biochemistry. 39: 489-501.

Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R., Rafei. G.R. 2011. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry. 37: 887-896.

Bernet, D., Schmidt, H., Wahli, T., Burkhardt-Holm, P. 2001. Effluent from a sewage treatment works causes changes in serum chemistry of brown trout (*Salmo trutta* L.). Ecotoxicology and Environmental Safety. 48: 140-147.

Citarasu, T., Sivaram, V., Immanuel, G., Rout, N., Murugan, V. 2006. Influence of selected Indian immunostimulant herbs against spot syndrome virus (WSSV) infection in black tiger shrimp, *Penaeous monodon* with reference to haematological. Biochemical and immunological changes. Fish and Shellfish Immunology. 21: 372-384.

Dügenci, S.K., Arda, N., Candan, A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. Journal of Ethnopharmacology. 88: 99-106.

Eleyinmi, A.F. 2007. Chemical composition and antibacterial of *Gongonema latifolium.* Journal of Zanjiang University Science B. 8(5): 352-358.

Foster-Swanson, A., Swartzentruber, M., Roberts, P. 1994. Refrence interval studies of the rate-blancked creatinine/jaffe method on BM/Hitachi Systems in six U.S. Laboratories. Clinical Chemistry. Abstract No. 361.

Galina, J., Yin, G., Ardo, L., Jeney, Z. 2009. The use of immunostimulating herbs in fish. An overview of research. Fish Physiology and Biochemistry. 35: 669-676.

Gamal, A.M., Moustafa, M.S.F., Hussein, H.S. 2002. *Aeromonas hydrophila* infection in male monosex *O. niloticus* fish reared in floating cages. 6th Vet. Med. Zag. Conference (7-9 Sept. 2002), Hurgada, Egypt.

Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V. 2004. Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans, Caqndida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. Ournal of Antimicrobial Chemotheraphy. 53: 1081-1085.

Johnson, A.M., Rohlfs, E.M., Silverman, L.M. 1999. Proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER (Eds). Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3 edition. WB Saunders Company, London. pp. 477-540.

Karabay-Yavasoglu, N.U., Karamenderes, C., Baykan, S. 2007. Antinociceptive and anti-inflammatory activities and acute toxicity of *Achilleanbilis* subsp. *Neilreichii* extract in mice and rats. Journal of Pharmaceutical Biology. 45: 162-168.

Karamenderes, C., Apaydin, S. 2003. Antispasmodic effect of *Achillea nobilis* L. subsp. *Sipylea* (O.Schwarz) Bassler on the rat isolated duodenum. Journal of Ethnopharmacology. 84: 178-179.

Magiatis, P., Skaltsounis, A.L. Chinou, I., Haroutounian, S.A. 2002. Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of essential oils of three greek *Achillea* species. Zeitschrift für Naturforschung C. 57(3-4): 287-290.

Mazandarani, M., Behmanesh, B., Rezaei, M.B. 2007. Ecological factors, chemical composition and antibacterial activity of essential oil from *Achillea millefolium* L. in the north of Iran. Planta Medica. 73:179. 55th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant Research. Graz, Austria, September 2–6.

Moss, D.W., Henderson, A.R. 1999. Enzymes in: Tietz fundermental of clinical chemistry. 4th edition. Tietz, N.W. (ed.). W.B. Sounders company, Philadalphia. pp. 283-335.

Mothana, R., Lindequist, U., Geraenert, R., Bednarski, P. 2009. Studies of the in vitro anticancer, antimicrobial and antioxidant potentials of selected Yemeni medicinal plants from Island Soqotra. BMC Complementary and Alternative Medicine. 9: 1-7.

Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. 2003. Harper's illustrated biochemistry. 26th edition. Lange Medical Books/McGraw-Hill (Medical Publishing Division). New York. 402 p.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]

Nafisi Bahabadi, M., Banaee, M., Taghiyan, M., Nematdoust Haghi, B. 2014. Effects of dietary administration of yarrow extract on growth performance and blood biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). International Journal of Aquatic Biology. 2(5): 275-285.

Nickavar, B., Kamalinejad, M., Haj-Yahya, M., Shafagh, B. 2006. Comparison of the free radical scavenging activity of six Iranian Achillea species. Pharmaceutical Biology. 44: 208-212.

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&Shellfish Immunology. 20: 263-273.

Stojanovic, G., Radulovic, N., Hashimoto, T., Palic, R. 2005. *In vitro* antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: the composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract. Journal of Ethnopharmacology. 101: 185-90.

Thomas, L. 1998. Clinical laboratory diagnostics. 1st edition. Frankfurt: TH-Books Verlagesellschaft. 1526 p.

Tietz, N.W. 1995. Clinical guide to laboratory tests. 3rd edition. Philadelphia, Pa. WB Saunders Company. 624: 622-629.

Viegi, L., Pieroni, A., Guarrera, P.M., Vangelisti, R. 2003. A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. Journal of Ethnopharmacology. 89: 221-244.

Vitalini, S., Fico, G., Iorizzi, M., Tomé, F. 2007. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Achillea macrophylia* L. and *Achillea stricta* Schleicher from Valsesia (Italy). Planta Medica.73: 564. 55th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant Research. Graz, Austria, September 2-6.

Yaghoubi, S.M.J., Gorbani, G.R., Soleimanianzad, S., Satari, R. 2007. Antimicrobial activity of Iranian propolis and its chemical composition. Daru. 15(1): 24-48.

Yakhkeshi, S., Rahimi, S., Hemati, M. 2012. Effects of yarrow (*Achillea millefolium* L.,), antibiotic and probiotic on performance, immune response, serum lipids and microbial population of broilers. Journal of Agricultural Science and Technology. 14(4): 799-810.

Yin, G., Ardo, L., Thompson, K.D., 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.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.10.5]