تاثیر عصاره سیلی‌مارین بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجه با سم دیازینون

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

۱ - دانشجوی کارشناسی ارشدرشته شیلات دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، عضو باشگاه پژوهشگران جوان
۲ - دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال،دانشکده علوم و فنون دریایی
۳ - دانشگاه تهران، دانشکده منابع طبیعی
۴ - دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال،دانشکده علوم و فنون دریایی
۵ - دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده محیط زیست و منابع طبیعی بهبهان

چکیده

امروزه، ورود سموم کشاورزی به آب سطحی یکی از بزرگترین معضلات زیست محیطی است که می‌تواند حیات آبزیان را به خطر اندازد. تاثیر این آلاینده‌ها بر سیستم ایمنی ماهی‌ها موجب تضعیف آن و افزایش حساسیت ماهی‌ها نسبت به پاتوژن‌ها گردیده است. دیازینون، یکی از مهمترین سموم ارگانوفسفره است که در بسیاری از مناطق کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد و در آب‌های سطحی ایران نیز یافت می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر سم دیازینون بر سیستم ایمنی ماهی‌ها و استفاده از عصاره گیاه خار مریم، سیلی مارین در کاهش اثر سوء این سم بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان است. کاهش سطح پراکسیداز پلاسما، IgM ، کمپلمان تام، لیزوزیم در ماهی‌هایی که در معرض دیازینون قرار داشته‌اند به خوبی نشان دهنده تاثیر سم دیازینون بر سیستم ایمنی ماهی‌ها در طولانی مدت است. حال آنکه در ماهی‌هایی که با مکمل سیلی-مارین تغذیه شده و در مواجه با سم قرار گرفته‌اند، تغییر معنی‌داری($P< ۰/۰۵$) در مقایسه با ماهی‌های گروه کنترل مشاهده نگردید، که این امر نشان دهنده تاثیر تقویتی و حفاظتی سیلی‌مارین بر سیستم ایمنی ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان است.

واژگان کلیدی: دیازینون، سیلی‌مارین، قزل‌آلای رنگین کمان، سیستم ایمنی

مقدمه

با توجه به توسعه بخش کشاورزی و استفاده بیش از حد از سموم و آفت‌کش‌ها و نفوذ این ترکیبات از طریق زهکشی مزارع و رواناب‌های سطحی، و عدم توجه به مسائل زیست‌محیطی توسط مسئولین و کشاورزان، بروز اختلال در حیات آبزیان و افزایش صدمات جبران ناپذیر در این زمینه اجتناب ناپذیر است. دیازینون یکی از مهمترین سموم ارگانوفسفره کشاورزی است در طی ده‌های اخیر در ایران توسط کشاورزان به کرات در طی فصل کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد و معمولا پس از بارش باران از طریق رواناب‌ها وارد آب‌های سطحی کشور می‌شود (سلسله، ۱۳۸۰؛ طراحی تبریزی، ۱۳۸۰؛ هنرپژوه، ۱۳۸۲؛ قمیسی، ۱۳۸۳؛ حسینی، ۱۳۸۴و بابایی، ۱۳۸۸).

سیستم ایمنی جانوران آبزی، نظیر ماهی‌ها بطور پیوسته تحت تاثیر تغییرات دوره‌ای و ناخواسته محیطی قرار دارد و هرگونه تغییر ناخواسته محیطی می‌تواند بصورت استرس حاد یا مزمن سلامت جانور را به مخاطره اندازد. از اینرو سموم آفت‌کش، علف کش و سایر ترکیبات سمی موجود در پساب مزارع کشاورزی، فاضلاب‌های صنعتی و شهری می‌تواند بر روی سیستم ایمنی ماهیان اثرگذار باشد. کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید، بویژه لنفوسیت‌ها و افزایش نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها در ماهی

*مسئول مکاتبه: Kamal_Ahmadi61@yahoo.com

ازون‌برون، *A.stellatus* (خوشباور رستمی و همکاران، ۱۳۸۴)، ماهی شیپ، *A.nudiventris* (خوشبار رستمی و سلطانی، ۱۳۸۴) قزل‌آلای رنگین کمان، *O.mykiss* (بنایی و همکاران، ۱۳۸۸) و کپور، *C.carpio* (بنایی و همکاران، ۱۳۸۷)، تغییر سطح فعالیت لیزوزیم در ماهی کپور علف‌خوار (پورغلام و سلطانی، ۱۳۸۶) و ماهی قزل آلای رنگین‌کمان (بنایی و همکاران، ۱۳۸۸) تحت تیمار سم دیازینون نشان دهنده تاثیر این سم در تضعیف سیستم ایمنی ماهی‌های در معرض آلودگی دارد. در واقع رادیکال‌های آزاد تولید شده ناشی از متابولیسم این سموم در سیستم بیولوژیک آبزیان می‌تواند بسیار خطرناک باشد. تولید رادیکال آزاد ناشی از متابولیسم دیازینون در بافت‌های مختلف بویژه کبد ماهی‌های تحت تیمار سم دیازینون به اثبات رسیده است (Üner *et al*., 2006).

سیستم ایمنی جانوران از حساسیت نسبتا بالایی نسبت به استرس اکسایشی برخوردار می باشد. گلوتاتیون (GSH)، مهمترین عامل احیا کننده درون سلولی است و نسبت به استرس اکسایشی فوق العاده حساس می باشد و دارای وظایف و عملکردهای متعددی نظیر حفاظت در مقابل استرس اکسایشی، تنظیم بیان ژنی، تنظیم مرگ سلولی، فعال نمودن و تکثیر لنفوسیت های نوع T می‌باشد. حال آنکه، مشاهده شده پایین بودن سطح GSH در ارتباط با بروز انواع اختلالات در عملکرد لنفوسیت ها می‌باشد (Townsend *et al*., 2003 وDroge *et al*., 2000).

لذا، تقویت سیستم ایمنی ماهی‌ها از طریق افزودن مکمل‌های غذایی می‌تواند راه حل مناسبی برای پیشگیری از بروز ضعف در سیستم ایمنی آنها گردد. ترکیب بسیاری از عصاره های گیاهی قادر به از بین بردن انواع ترکیبات فعال اکسیژن دار (ROS) می باشند و به موجب آن می توانند بطور مستقیم از اثرات استرس اکسایشی بکاهند. این ترکیبات همچنین می توانند بطور غیر مستقیم و از طریق فعال نمودن سیستم دفاع آنتی اکسیدانی نقش حفاظتی خود را اعمال نمایند.

استفاده از گیاهان دارویی به عنوان ترکیبات ضد قارچ (ابراهیم‌زاده موسوی و همکاران، ۱۳۸۵) و ضد باکتری (Naghdi Badi and Makizadeh Tafti, 2007) و همچنین به عنوان ترکیبات محرک سیستم ایمنی (Ahmadi *et al*., 2008)، در افزایش توان سیستم ایمنی ماهیان از دیرباز مرسوم بوده است.

گیاه خار مریم از تیره کاسنی با نام علمی *Silybum mariamum* ، نام انگلیسی Milk thistle واجد کمپلکس به نام سیلی مارین می‌باشد که از خاصیت دارویی فوق العاده‌ای برخوردار است. سیلی مارین، حاوی مخلوطی از سیلی بین، سیلی کریستین و سیلی دیانین می باشد. از لحاظ دارویی، سیلی مارین و سیلی بین جز ترکیبات محافظ سلولی بویژه سلول های کبدی محسوب می شوند. مطالعات متعددی بر روی خواص آنتی اکسیدانی، از بین برندگی اکسی رادیکال ها و توانایی شلات نمودن آهن و تاثیرات افزاینده محتوی گلوتاتیون درون سلولی صورت گرفته است که گویای این مطلب است که سیلی مارین ممکن است موجب تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی سلول گردد (Borsari *et al*., 2001; Valenzuela and Garrido, 1994). نتیجه دیگر تحقیقات نیز نشان دهنده خاصیت و عملکرد سیلی مارین در تقویت سیستم ایمنی است (Lang *et al*., 1988; Dietzmann *et al*., 2002). با این حال، مکانیزم سیلی مارین به عنوان یک محرک سیستم ایمنی به خوبی تشریح نشده است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره سیلی‌مارین بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncrohynchus mykiss*) در مواجه با سم دیازینون است.

مواد و روش‌ها

۱۲۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان کاملا سالم از نظر ظاهری (۱۵±۸۵/۵ گرمی) از یک مزرعه خصوصی خریداری و به آزمایشگاه تکثیر و پرورش ماهی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران انتقال داده شدند. ماهی‌های به طور تصادفی در ۱۲ مخزن ۱۰۰۰ لیتری مجهز به هواده با طراحی سیستم نیمه‌مدار بسته با ۱۰درصد تعویض آب در روز توزیع و به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند تا کاملا به شرایط آزمایشگاهی سازگار شوند. ماهی‌ها در طی این مدت با جیره غذایی تجاری تغذیه گردیدند.

تهیه غذا بصورت تازه و بطور هفتگی و با افزودن پودر مکمل سیلی‌مارین به نسب ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم غذا با پودر غذای تجاری و تهیه مجدد پلت غذایی انجام گردید.

آزمایش سم‌شناسی مطابق به دستورالعمل OECD (Organization for Economic C-opration an Development) صورت گرفت. در طی مدت آزمایش شرایط فیزیکوشیمیایی آب بطور مرتب و روزانه کنترل گردید. آزمایش سمیت مزمن روی قزل‌آلای رنگین‌کمان برای ۲۸ روز و در قالب یک طرح کاملا تصادفی و به صورت چهار تیمار

ماهی‌های گروه کنترل، ماهی‌های تحت تیمار دیازینون (۰/۱mg/l)، ماهی‌هایی که صرفا با مکمل غذایی سـیلی‌مـارین تغذیـه شدند و ماهی‌هایی که علاوه برقرار گرفتن در معرض سم دیازینون در طول دوره آزمایشی نیز با غـذای حـاوی مکمـل سـیلی-مارین تغذیه شدند و با ۳ تکرار طراحی شد. در طی دوره آزمایش، و پس از هر تعویض آب میزان سم متناسـب بـا آب تعـویض تجدید گردید.

پس از آغاز آزمایش، بطور تصادفی از هر مخزن ۳ ماهی و در مجموع از هر تیمار ۹ ماهی در روزهای ۷، 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 (Ethyene Diamine Tetra Acetic Acid)[1] خون‌گیری گردید. پلاسما پس از سانتریفیوژ نمونه‌های خون در دستگاه سانتریفیوژ با قدرت ۶۰۰۰g دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جداسازی و تا زمان انجام آزمایش‌های نهایی در فریز ۷۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

در سنجش سطح فعالیت پراکسیداز پلاسما، ۱۵ میکرولیتـر پلاسـما بـا ۳۵ میکرولیتـر بـافرHBSS (Hank's Balanced Salt Solution)[2] عاری از منیزیوم و کلسیم رقیق شد. سپس بـه آن ۵۰ میکرولیتـر محلـول تتـرا متـل بنزیـدین (Tetra Methyl Benzyl)TMB و ۵ میلی مول آب‌اکسیژنه افزوده شد تا محلول بـه رنـگ آبـی درآیـد، سـپس پـس از گذشـته ۲ دقیقه، با افزودن ۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۲ مولار واکنش رنگی متوقف گردید و رنگ محلول به زرد روشن تبـدیل شـد. در مرحله بعد میزان جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر سنجیده می‌شود و پس از محاسبه با جذب نوری محلول استاندارد نتیجه برحسب واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر بیان می‌شود.

سنجش کمپلمان تام CH_{50} با استفاده از کیت تهیه شده از شرکت بهار افشان تهران و براسـاس روش ایمنودیفیـوژن شـعاعی اندازه‌گیری گردید.

سطح فعالیت لیزوزیم نیز با استفاده از روش کدورت سنجی و با استفاده از سوسپانسون *Micrococcus lysodeikticus* و آنزیم مورآمیداز صورت گرفت. میزان کدورت نیز در طول موج ۶۷۰ سنجش می‌شود.

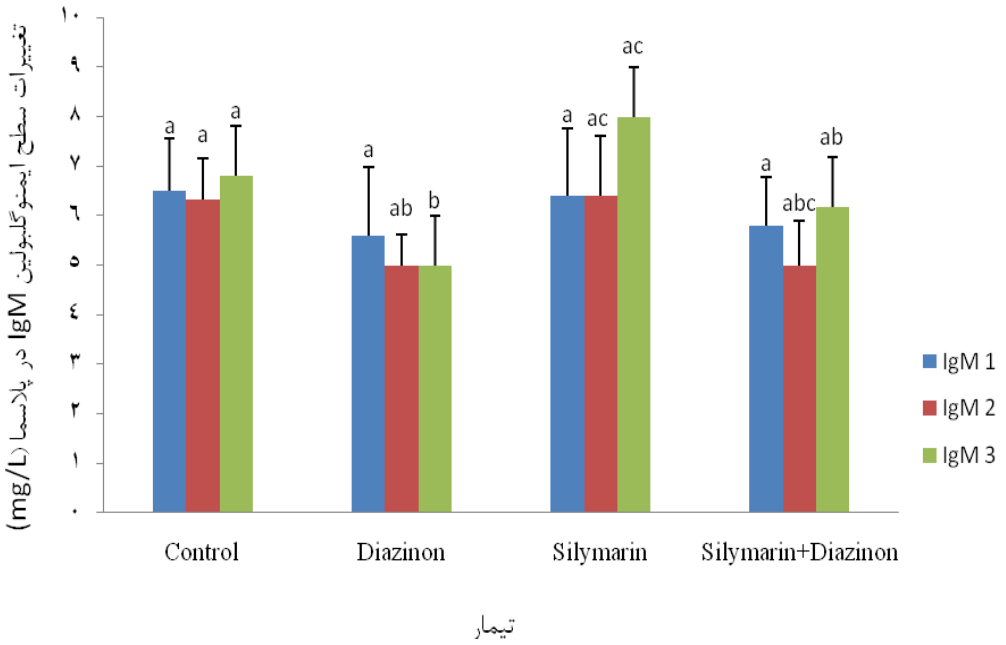
سطح ایمنوگلبولین IgM پلاسما نیز با استفاده از کیت شرکت بهار افشان تهران و اتوآنالیزر هیتاچی سنجش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار MINITAB 13 و ترسیم نمودارها نیـز بـا نـرم‌افـزار EXCEL 2003 صـورت گرفت. تجزیه و تحلیل آماری از طریق آنالیز واریانس یک صرفه صورت گرفت و معنی‌دار بودن میانگین‌ها نیز با آزمـون تـوکی در سطح اطمینان ۹۵درصد انجام شد.

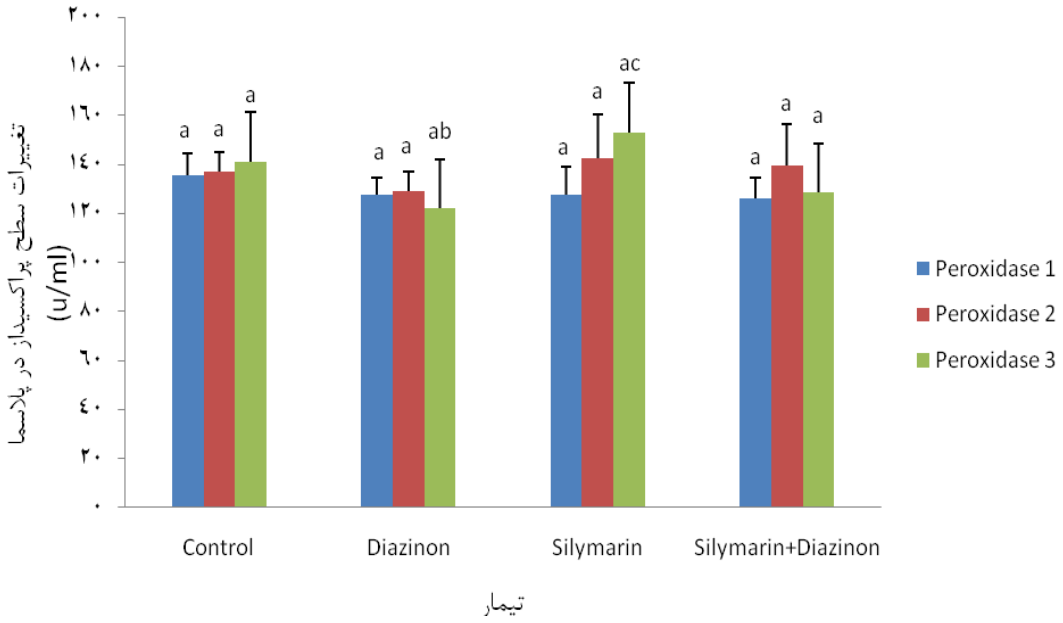
نتایج

در طی دوره آزمایش هیچ گونه مرگ و میری در بین ماهی‌های تحت تیمار مشاهده نشد. با این حال، ماهی‌هـای تحـت تیمـار سم بخصوص در پایان دوره آزمایشی بسیار عصبی به نظر می‌رسیدند. برخی از آنها بطور نامتعـادل و در سـطح آب شـنا مـی-کردند، که این امر ناشی از تاثیر بازدارنده سم دیازینون بر استیل‌کولین استراز و بروز رفتارهای عصبی در این مـاهی‌هـا اسـت. حال آنکه در دیگر تیمارها چنین تغییر رفتاری مشاهده نگردید. تغییرات سطح ایمنوگلبولین IgM و پراکسیداز، کمپلمان تام و همچنین لیزوزیم در پلاسمای ماهی‌های تحت تیمار و گروه کنترل بصورت نمودار در اشکال ۱تا۴ به ترتیب دیده می‌شود.



شکل ۱- تغییر سطح ایمنوگلبولین پلاسما در ماهی قزل‌آلا تحت تیمار سم، مکمل سیلی‌مارین، مکمل سیلی‌مارین و سم

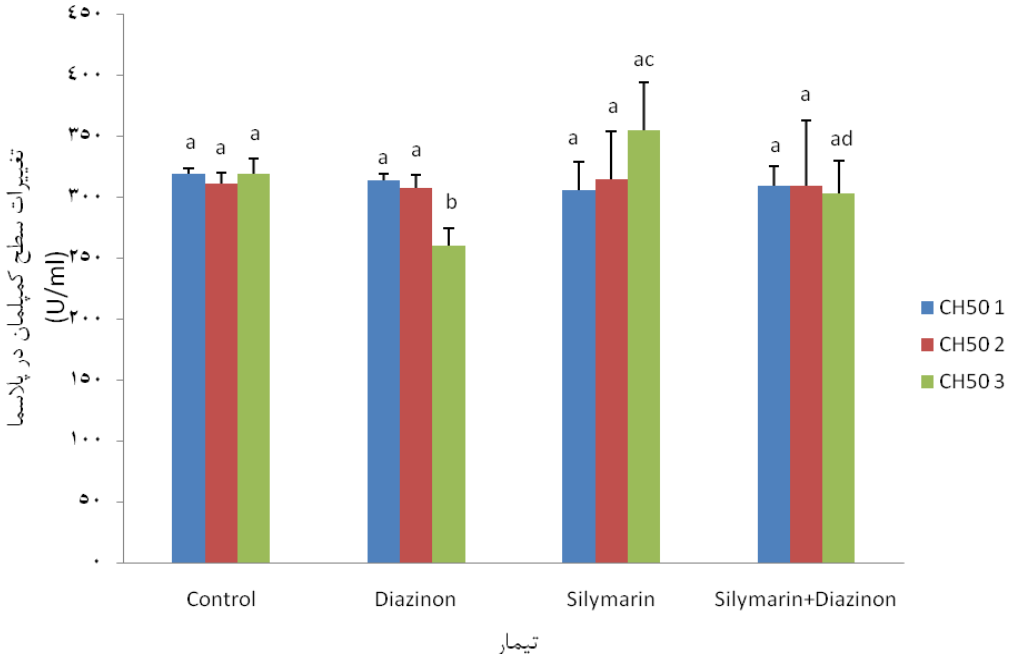
در نمونه‌برداری‌های صورت گرفته در روزهای ۱۴ و ۲۸ پس از شروع آزمایش سطح ایمنوگلبولین در ماهی‌های تحت تیمار سم دیازینون بطور معنی‌داری (p< ۰/۰۵) کاهش یافت. حال آنکه در اولین نمونه برداری هیچ گونه تغییر معنی‌داری در غلظت IgM ماهی‌های تحت تیمار مشاهده نگردید. اگرچه سطح IgM در پلاسمای ماهی‌هایی که با مکمل سیلی‌مارین در طی دوره آزمایش بصورت یک روند صعودی است، اما در افزایش سطح IgM در این ماهی‌ها در مقایسه با ماهی‌های گروه کنترل اختلاف معنی‌داری دیده نشد(p> ۰/۰۵) . اختلاف سطح IgM در پلاسمای ماهی‌هایی که تحت تیمار سم بوده و با مکمل سیلی‌مارین تغذیه شده‌اند نیز از نظر آماری در مقایسه با ماهی‌های گروه کنترل معنی‌دار نبود(P> ۰/۰۵).



شکل ۲-

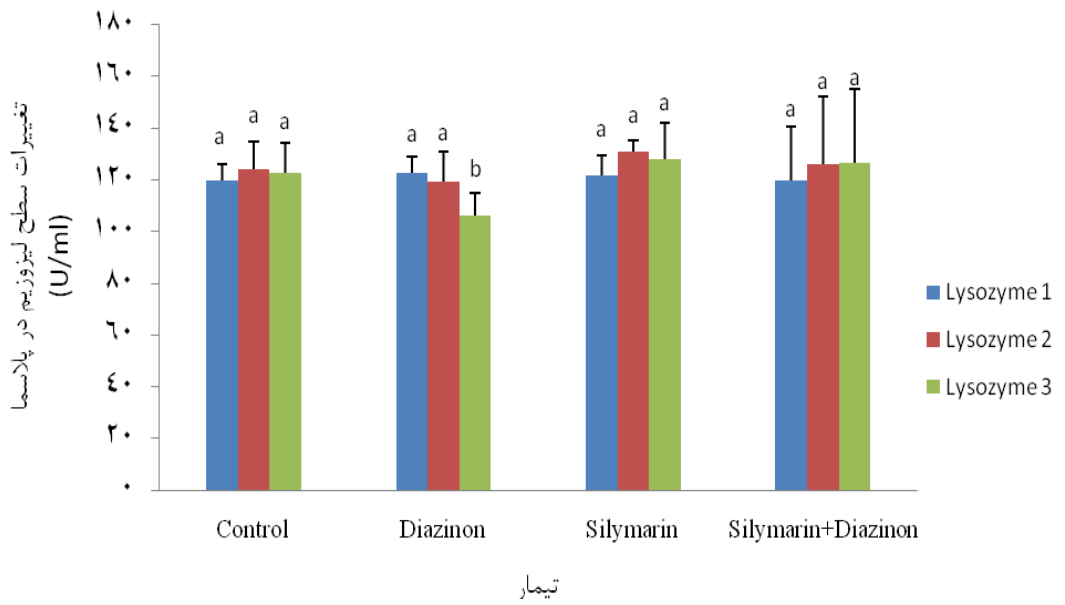
تغییر سطح پراکسیداز پلاسما در ماهی ماهی قزل‌آلا تحت تیمار سم، مکمل سیلی‌مارین، مکمل سیلی‌مارین و سم

هیچ گونه اختلاف معنی‌داری در سطح پراکسیداز در ماهی‌های تحت تیمار در مقایسه با ماهی‌های گروه کنتـرل در طـی دوره آزمایشی و در تمامی مراحل نمونه‌برداری مشاهده نگردید($p > ۰/۰۵$). حال آنکه، بین سطح پراکسـیداز مـاهی‌هـای تحـت تیمار سم دیازینون و ماهی‌هایی که با مکمل سیلی‌مارین تغذیه شده‌انـد در سـومین مرحلـه نمونـه بـرداری تفـاوت فـاحش و معنی‌داری از نظر آماری وجود دارد($p < ۰/۰۵$).



شکل ۳- تغییر سطح کمپلمان تام پلاسما در ماهی ماهی قزل‌آلا تحت تیمار سم، مکمل، مکمل سیلی‌مارین و سم

سطح کمپلمان تام پلاسما در ماهی‌های تحت تیمار سم پس از گذشت ۲۸ روز از قرار گرفتن ماهی‌ها در معرض سم دیـازینون بطور معنی‌داری در مقایسه با ماهی‌های گروه کنترل کاهش یافت($P< ۰/۰۵$). در حالی که در دیگر زمان‌های نمونـه‌بـرداری هیچ گونه اختلاف معنی‌داری در سطح کمپلمان این ماهی‌ها مشاهده نگردید($p> ۰/۰۵$). افزایش معنـی‌دار سـطح کمپلمـان پلاسما در ماهی‌هایی که با مکمل سیلی‌مارین تغذیه شده‌اند در مقایسه با ماهی‌هایی کـه عـلاوه بـر تغذیـه از سـیلی‌مـارین در معرض سم نیز قرار داشته‌اند و نیز ماهی‌هایی که بدون دریافت هیچ گونه مکملی تحت تیمار سم بوده‌اند نیـز قابـل ملاحظـه و معنی‌دار بود($P< ۰/۰۵$) .



شکل ۴- تغییر سطح لیزوزیم پلاسما در ماهی ماهی قزل‌آلا تحت تیمار سم، مکمل سیلی‌مارین، مکمل سیلی‌مارین و سم

سطح لیزوزیم در سومین مرحله از نمونه‌برداری از ماهی‌های تحت تیمار سم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد($p< ۰/۰۵$). در حالی که، در سایر تیمارها در طی مراحل مختلف نمونه‌برداری در کل دوره آزمایشی هیچ گونه اختلاف معنی‌داری در سطح لیزوزیم پلاسما مشاهده نگردید($P> ۰/۰۵$). .

بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این تحقیق حاکی از آن بود که کاهش معنی‌دار ($p< ۰/۰۵$) سطح ایمنوگلبولین در ماهی‌های تحت تیمار سم دیازینون در مقایسه با نمونه‌های گروه شاهد و ماهیانی که با مکمل سیلی‌مارین تغذیه شده‌اند نشان دهنده تاثیر دیازینون در کاهش سطح ایمنوگلبولین پلاسما در این ماهیان است. عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین ماهیانی که با مکمل سیلی‌مارین تغذیه شده‌اند و در مواجه با سم نیز قرار داشتند نیز حاکی از تاثیر سیلی‌مارین در کاهش عوارض ناشی از سم دیازینون بر سیستم ایمنی این ماهی‌ها است.

مطالعات صورت گرفته در این زمینه نشان می‌دهد که لنفوسیت‌ها در مواجه با رادیکال‌های آزاد اکسیژنی (ROS)، توانایی پاسخ تکثیری آنها به میتوژن‌ها و نیز تولید IL-2 بشدت دچار نقصان می‌گردد (Flescher *et al*., 1994).

کمپلمان‌ها در واقع پروتئین‌های فاز حاد سیستم ایمنی محسوب می‌شوند و غلظت آنها معمولا پس از نکروز سلولی و مرگ بافتی تغییر می‌کند. به عبارتی، تغییر سطح کمپلمان‌ها به عنوان یک پاسخ فاز حاد سیستم ایمنی نوعی واکنش سیستمیک تعمیم یافته محسوب می‌شود که می‌توان آن را به التهاب و پاسخ ایمنی ذاتی مربوط دانست (Poortmans, 1987). کاهش سطح کمپلمان تام پلاسما می‌تواند ماهیان را نسبت به ابتلا به عفونت‌های باکتریایی مستعد نماید. با توجه به نتایج بدست آمده کاهش سطح کمپلمان تام پلاسما در ماهی‌های در معرض سم دیازینون می‌تواند نشان دهنده تاثیر این سم در تضعیف سیستم ایمنی ماهی‌ها باشد. حال آنکه سیلی‌مارین با پیشگیری از مرگ سلولی و افزایش توان ترمیمی بافت‌ها می‌تواند از تاثیر سوء رادیکال‌های آزاد ناشی از متابولیسم دیازینون، بر سیستم ایمنی ماهی‌ها بکاهد.

لیزوزیم توسط گلبولهای سفید منتشر در بافت های مختلف و گردش خون ترشح می شود در ترشحات موکوسی، آبشش‌ها، بافت‌های کلیه، طحال و دستگاه گوارش و سرم خون ماهیان یافت می شود و قادر به شکستن پیوند های گلیکوزیدی لایه پپتیدو گلیکان موجود در دیواره‌ی سلولی باکتری‌های گرم مثبت است (سلطانی، ۱۳۸۷). کاهش سطح لیزوزیم در ماهی‌هایی که در مواجه با سم قرار داشتند نیز به وضوح تاثیر دیازینون را در تضعیف سیستم ایمنی نشان می‌دهد. از اینرو این ماهی‌ها نسبت به بروز عفونت‌های باکتریایی از حساسیت بیشتری برخوردار خواهند بود. همچنین عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین سطح لیزوزیم در ماهی‌های گروه کنترل و ماهی‌هایی که با مکمل سیلی‌مارین تغذیه شده‌اند نیز حاکی از تاثیر سیلی‌مارین در

تقویت سیستم ایمنی است. کاهش سطح فعالیت لیزوزیم در ماهی کپور علف‌خوار که در معرض دیازینون قرار داشته نیز موید همین امر است (پورغلام و سلطانی، ۱۳۸۶). در طی سال‌های اخیر، مطالعات زیادی در مـورد اثـرات درمـانی سـیلی‌مـارین در بیماری‌های مختلف صورت گرفته است و نتایج علمی قابل توجهی در این زمینه بدست آمـده اسـت. مطالعـات صـورت گرفتـه روی جانوران آزمایشگاهی نشان دهنده تاثیر درمانی سیلی‌مارین در بیماری‌های ناشی از بالا بودن چربی خون، انسداد عـروق و تشکیل پلاک آترواسکلروز (Kreman *et al*., 1998)، مسمومیت و اختلالات کلیـوی (Zima *et al*., 1998)، مسـمومیت دارویـی (Muriel and Mourelle, 1990)، اخـتلالات کبـدی (Fiebrich and Koch, 1979)، مسـمومیت غـذایی (Desplaces *et al*., 1975) و شـیمیایی (Janiak, 1974)، بیمـاری‌هـای ویروسـی (Lirussi and Okolicsanyi, 1992)، اختلالات عصبی (Zhang *et al*., 1993)، تنظیم قند خون (Velussi *et al*,. 1993)، خاصیت ضد سرطانی (Zi *et al*., 1998)، پیشگیری از همولیز گلبول‌های قرمز (Zou *et al*., 2001) و سفید (Locher *et al*., 1998) دارد.

پراکسیدازها آنزیم‌های واجد هم می‌باشند که در اکسیداسیون انواع بسیاری از گزنوبیوتیک‌ها توسط پراکسید هیـدروژن نقـش ایفا می‌نمایند (Saunders, 1973). افزایش سطح فعالیت پراکسیدازها در پلاسمای ماهی‌هـایی کـه از مکمـل سـیلی‌مـارین تغذیه نمده‌اند نشان دهنده افزایش توان سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی جهت حذف رادیکال‌های آزاد تولید شده در طی فرایند متابولیسم دیازینون در بدن ماهی است. حال آنکه کاهش سطح این آنزیم در ماهی‌هایی که در مواجه با دیازینون بوده‌اند نشان از برهم خوردن تعادل بین سیستم دفاعی بدن و افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژنی (ROS) است که این امر سبب بروز آسیب‌های جدی به بخش‌های مختلف بدن از جمله سیستم ایمنی ماهی‌ها می‌گردد.

رادیکال‌های آزاد تولید شده در حین متابولیسـم و تجزیـه دیـازینون در فراینـد سـم‌زدایـی در کبـد مـاهی‌هـا، مـی‌تواننـد بـا اکسیداسیون پروتئین‌های درون سلولی در عملکرد آنها اختلال ایجاد نمایند. در اثر پراکسیداسیون لیپیـدی غشـاهای سـلولی، انسجام و ثبات غشا از بین رفته و در تبادلات سلولی اخلال ایجاد می‌شود که همین امر زمینه ساز مـرگ سـلولی خواهـد شـد (Üner *et al*., 2006).

از سوی دیگر تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژنی (ROS) توسط سلول‌های فعال فاگوسیتوزی در سیستم ایمنـی نیـز مـی‌توانـد حیات سلول‌های این سیستم را تهدید نماید زیرا غشای این سلول‌ها غنی از اسیدهای چرب بلند زنجیـره غیـر اشـباع اسـت و نسبت به پراکسیداسیون لیپیدی حساس می‌باشند.

ایمنوگلبولین‌ها یا آنتی‌بادی‌ها دسته‌ای از گلیکوپروتئین‌ها می‌باشند که در سرم و مایعات بافتی تمام مهره‌داران یافت می‌شـود. آنتی‌بادی‌ها توسط پلاسموسیت‌ها تولید می‌شود و پلاسموسیت‌ها نیز از لنفوسیت‌های B مشتق مـی‌شـوند (Stites, 1991). ایمنوگلبولین‌ها نقش مهمی در مقابله با بیماری‌های عفونی باکتریایی ایفا می‌کند. لذا کاهش سطح فعالیت آنها می‌تـوان منجـر به تضعیف سیستم ایمنی ماهی‌ها گردد

با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان چنین استدلال کرد که ترکیبات موجود در کمپلکس سیلی‌مارین بویژه ترکیبـات آنتـی-اکسیدانی، می‌تواند با از بین بردن رادیکال‌های آزاد و همچنین تقویت سیستم ایمنی از اثرات سوء دیازینون بر سیستم ایمنـی ماهی‌هایی که به هر دلیلی در معرض این سم قرار می‌گیرد پیشگیری نماید. در واقع، آنتـی‌اکسـیدان‌هـا از غشـای سـلول‌هـای فاگوسیتوز کننده در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می‌نماینـد (Ditzmann *et al*., 2002). عـلاوه بـراین سـایر ترکیبـات موجود در عصاره گیاهان دارویی می‌تواند موجب تقویت سیستم ایمنـی گـردد (Levin *et al*., 1996 & Heyborn and Silver, 1996)، از سویی دیگر، از بروز بسیاری از بیماری‌های ناشی از خود سرکوبی سیسـتم ایمنـی نیـز جلـوگیری نمایـد (Thellin *et al*., 2000).

براساس نتایج بدست آمده و مستندات موجود، تاثیر دیازینون بر سیستم ایمنی ماهی‌ها محرز شد. همچنین تاثیر سیلی‌مـارین به عنوان یک عصاره دارویی در افزایش توان سیستم ایمنی نیز به اثبات رسید. بنابراین استفاده از مکمل گیاهی سیلی‌مارین در جیره غذایی ماهی‌ها می‌تواند با افزایش توان سیستم ایمنی و تقویت آن و نیز کاهش اثـر سـم دیـازینون بـر روی بخـش‌هـای مختلف سیستم ایمنی ماهی‌ها، راه کار مناسبی برای پیشگیری اثرات سوء احتمالی ناشی از تضعیف سیستم ایمنی ماهی‌هـا در نتیجه ورود آلاینده‌های سمی به مزارع پرورشی و تاثیر آن بر سیستم ایمنی ماهی‌ها باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات جناب آقای مهندس عاشوری و سرکار خانم مهندس موسوی کارشناسـان آزمایشـگاه شـیلات دانشـگاه تهران قدردانی می‌گردد.

منابع

ابراهیم زاده موسوی، ح. ع.شـریف روحـانی، م.خسـروی، ع.مهرابـی، ی. و آخونـدزاده بسـتی، ا. ۱۳۸۵.ارزیـابی کـاربرد اسـانس اوکالیپتوس (*Eucaliptus camaldolensis* Dehnh) در کنترل آلودگی های قارچی تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان. مجله گیاهان دارویی، ۵(۲۰):۴۲-۴۷.

بابایی، ه و خداپرست، س. ح. ۱۳۸۸. بررسی و تعیین باقیمانده سموم کشاورزی در آب رودخانه سبزه کوه. نخسـتین همـایش ملی ماهیان سردابی. اردبیهشت ۱۳۸۸، تنکابن. صفحه ۱۱۸.

بنایی، م. میرواقفی، ع. ر. احمدی، ک .بنایی، س. ۱۳۸۷.تعیین LC_{50} و بررسی تاثیر سمیت حـاد دیـازینون بـر روی شـاخص های خون شناسی در کپور (*Cyprinus carpio*). مجله پژوهش های علوم وفنون دریایی،۳ (۲) : ۱۰-۱.

پورغلام، ر. و سلطانی، م. ۱۳۸۶. فعالیت لیزوزیم ماهی کپور علف خوار پس از در معرض قرارگیری به غلظت های تحت کشنده ارگانوفسفر، دیازینون. مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران،۶۲(۲):۵۲-۵۰.

حسینی، م.۱۳۸۴. بررسی مقدار باقیمانده حشره‌کش‌های مصرفی فسفره در آب رودخانه‌های کر و سیوند و آب‌هـای زیرزمینـی و محصول غالب (خیار) در زیر حوزه آنها در سال‌های ۸۴-۸۳. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشـکده بهداشـت، دانشـگاه علـوم پزشکی تهران.

خوش باوررستمی، ح. ع. و سلطانی، م. ۱۳۸۴. بررسی تاثیر سمیت حاد دیـازینون بـر روی شاخصـهای خـونی مـاهی شـیپ *Acipenser nudiventris*و تعیین میزان LC50 . مجله علمی شیلات ایران فارسی،۱۴(۳)۶۰-۴۹.

خوش باوررستمی، ح. ع.، سلطانی، م. و یلقی، س. ۱۳۸۴. اثر سم دیازینون روی شاخص های خونی ماهی خاویاری ازون برون (*Acipenser stellatus*)و تعیین LC50 . علوم کشاورزی و منابع طبیعی ،۱۲(۵):۱۰۸-۱۰۰.

سلسله، م.۱۳۸۰. بررسی و تعیین مقدار حشره‌کش‌هـای مصـرفی فسـفره در آب رودخانـه‌هـای اسـتان مازنـدران. پایـان نامـه کارشناسی ارشد، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

طراحی تبریزی، س.۱۳۸۱. بررسی و تعیین مقدار حشـره‌کـش‌هـای مصـرفی (دیـازینون، مـالاتیون و متاسیسـتوکس) در آب رودخانه سهند تبریز. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

قمیسی، ع. ۱۳۸۳. بررسی و تعیین مقدار حشره‌کـش‌هـای مصـرفی دیـازینون و مـالاتیون در آب رودخانـه کـرج. پایـان نامـه کارشناسی ارشد. دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

هنرپژوه، س. ک.۱۳۸۳. بررسی و تعیین مقدار حشره‌کش‌های فسفره (دیازینون، مالاتیون و آزینفوس‌متیـل) در آب رودخانـه-های سیمینه رود. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

Ahmadi, K., Banaee, M., Rad, E.& Mirvaghefi, A. R. 2008. Effects of dietary_intake of levamisole on the immune system and growth of Rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) ,challenged by *Aeromonas hydrophila. Th*e 15th National & Third international conference of biology. University of Tehran.

Borsari, M., Gabbi, C., Ghelfi, F., Grandi, R., Saladini, M.& Severi, S. 2001. Silybin, a new iron-chelating agent. J. Inorg, Biochem., 85:123–9.

Desplaces, A., Choppin, J.& Vogel, G. 1975. The effects of silymarin on experimental phalloidine poisoning. Arzneimittelforschung, 25: 89-96.

Dietzmann, J., Thiel U., Ansorge, S., Neumann, K.H.& Tager, M. 2002. Thiolinducing and immunoregulatory effects of flavonoids in peripheral blood mononuclear cells from patients with end-stage diabetic nephropathy. Free Radic. Biol. Med., 33:1347–54.

Droge, W. & Breitkreutz, R. 2000. Glutathione and immune function. Proc. Nutr. Soc., 59:595–600.

Flescher, E., Ledbetter, J. & Schieven, G. 1994. Longitudinal exposure of human T lymphocytes to weak oxidative stress suppresses transmembrane and nuclear signal transduction. J. Immunol., 153: 4880-9.

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

Janiak, B.1974 Depression of microsomal activity in the liver of mice following single administration of halothane and its influencibility by silybin. Anaesthesist, 23: 389-3993.

Kazi, N ., Radvany, R .& Oldman, T . 1997. Immunomodulatory effect of β- carotene on T lymphocyte subsets in patients with resected colonic polyps and cancer .Nut. cancer, 28: 140-5.

Kee-Ching, G.J, Chang-Shi, Y.& Wai-Yi, S. 1996. Supplementation with vitamins C and E enhances cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in healthy adults. Nutr., 64: 960-5.

Krecman, V. Skottova, N., Walterova, D., Ulrichova, J.& Simanek, V. 1998. Silymarin inhibits the development of diet –induced hypercholesterolemia in rats. Planta Med., 64: 138-142.

Lang, I., Deak, G., Nekam, K., Muzes, G., Gonzalez-Cabello, R&, Gergely, P. 1988. Hepatoprotective and immunomodulatory effects of antioxidant therapy. Acta Med .Hung., 45:287–95.

Lirussi, F.& Okolicsanyi, L. 1992. Cytoprotection in the nineties: experience with ursodeoxycholic acid and silymarin in chronic liver disease. Acta, Physiol. Hung., 80: 363-367.

Locher, R., Suter, P. M., Weyhenmeyer, R.& Vetter, W. 1998. Inhibitory action of silibinin on low density lipoprotein oxidation. Arzneimittelforschung, 48: 236-239.

Muriel, P.& Mourelle, M. 1990. Pervention by silymarin of membrane alterations in acute CCL4 liver damage. J. Appl. Toxicol; 10: 275-279.

Naghdi Badi, H, &Makizadeh Tafti, M. 2007. A review on Thymus species. *Journal of Medicinal Plants*, 7: 1-13.

Poortmans, J.R. 1987. Serum protein determination during short exhaustive physical activity. Journal of Applied physiology, 30 : 190-192.

Saunders, B.C. 1973. Peroxidases and catalases, in: Inorganic Biochemistry, G.L. Eichhorn (Ed.) Elsevier, Amsterdam.

Stites, D. P. 1991. Basic and clinical immunology. Lange Medical Book. USA.
Townsend, DM., Tew, K.D. Tapiero. H. 2003. The importance of glutathione in human disease. Biomed. Pharmacother, 57:145–55.

Üner, N., Oruç, E. Ö., Sevgiler, Y., Şahin, N., Durmaz, H.& Usta, D. 2006. Effects of diazinon on acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation in the brain of *Oreochromis niloticus*. Environmental Toxicology and Pharmacology , 21: 241–245.

Valenzuela, A.& Garrido, A. 1994. Biochemical bases of the pharmacological action of the flavonoid silymarin and of its structural isomer silibinin. Biol. Res., 27:105–12.

Velussi, M., Cernigoi, A. M., Viezzoli, L., Dapas, F., Caffau, C.& Zilli, M. 1993. Silymarin reduces hyperinsulinemia, malondialdehyde levels and daily insulin needs in cirrhotic diabetic patients. Current Therapeutic Research, 53: 533-545.

Zhang, J. Q., Mao, X. M.& Zhou, Y. P. 1993. Effects of silybin on red blood cell sorbitol and nerve conduction velocity in diabetic patients. Zhongguo. Zhong. Xi. Yi. Jie. He. Za. Zhi, 13: 708-726.

Zi, X., Feyes, D. K.& Agarwal, R. 1998. Anticarcinogenic effect of a flavonoid antioxidant, silymarin, in human breast cancer cells MDA-MB 468: induction of G1 arrest through an increase in Cip1/p21 concomitant with a decrease in kinase activity of cyclin-dependent kinases and associated cyclins. Clin. Cancer Res; 4: 1055-1064.

Zima, T., Kamenikova, L., Janebova, M., Buchar, E., Crkovska. T.& Tesar, V. 1998. The effect of silibinin on experimental cyclosporine nephrotoxicity. Renal Failure, 20: 471-479.

Zou, C. G., Agar, N. S.& 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.