بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم کشاورزی
گروه علوم دامی
(گرایش فیزیولوژی دام)

عنوان:

اثر عصاره استویا (*Stevia rebaudiana*) بر سیستم ایمنی و عملکرد تولیدی جوجه‌های گوشتی

از :
زهرا بشارتی

استاد راهنما :
دکتر مهرداد محمّدی

استادان مشاور :
دکتر محمّد روستایی علی‌مهر
دکتر یوسف حمید اوغلی

شهریور ۱۳۹۲

تقدیم به:

استاد راهنمای عزیزم دکتر مهرداد محمّدی

به پاس تمام خوبی‌ها و دلگرمی‌هایشان

تشکر و قدردانی

و خدایی که در این نزدیکیست. . . . در میان دل ها

سپاس خدا را که خلق کرد و نخوشی های زیبا برایمان، حتی اگر لبخند کودکی باشد.

خدایا سپاس تو را که آفریدی جسم را و بها بخشیدی روحم را، تا به شکرانه ی این موهبت باشم آن گونه که مطلوب توست و سپاس تو را که روشن کردی قلبم را با عشق، روحم را با معرفت و جسم را با سلامت، تا بدانم و بدانم که هستم و تا هستم باید چنان باشم که شایسته ی بندگی توست. . . سپاس خدایا که دستم گرفتی و آمدی پابه پایم، من بعد از هزار بار زمین خوردن به زانوی تو تکیه کردم و ایستادم، و در هر تاریکی، فانوس تو بود راهنمایم و باز سپاس خدایا که هستی، و تمام هستی ام از توست. . .

این تلاش کوچک را با تمام عشق و اشتیاق تقدیم می کنم به:

دستان مردانه **پدر** و چشمان دعاگوی **مادرم**، و خداوند را بسی شاکرم که از روی کرم پدر و مادری فداکار نصیبم ساخت تا در سایه درخت پربار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و در سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش بکوشم.

استاد راهنمای بزرگوار جناب آقای دکتر **مهرداد محمدی** که همواره از راهنمایی های ارزنده و حمایتهای بی دریغشان بهره مند بوده ام.

اساتید مشاور جناب آقای دکتر **محمد روستایی** و دکتر **یوسف حمیداوغلی** که در طی این پژوهش دلسوزانه مرا، همنون بودند و همواره در رفع مشکلات همکاری صمیمانه داشتند.

از داوران ارجمند، دکتر حسن درمانی و دکتر نوید حسین زاده که زحمت بازخوانی این پایان نامه را بر عهده داشتند و از نماینده تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر حسن رمضان پور که عهده دار اداره جلسه دفاع ایشان بودند تشکر می کنم.

از کلیه اساتید گرانقدر گروه علوم دامی دانشگاه گیلان که در مقطع کارشناسی و کارشناسی ارشد، از محضرشان کسب فیض نمودم تشکر می نمایم.

از تمامی دوستان و همکلاسی های عزیزم به پاس لحظه های بی دریغشان کمال تشکر را داشته و آرزومند بهترین ها در زندگی برایشان هستم.

زهرا بشارتی

شهریور ۱۳۹۲

چکیده فارسی ..... ح
چکیده انگلیسی ..... خ
مقدمه ۲
فصل اوّل: مرور منابع
۱-۱- آشنایی با گیاه استویا ۵
۱-۲- ترکیب شیمیایی استویا ۶
۱-۳- استویا در ایران ۷
۱-۴- دی‌ترپن گلیکوزیدهای موجود در گیاه استویا ۸
۱-۵- خاصیّت آنتی‌اکسیدانی و تقویت کننده سیستم ایمنی گیاه استویا ۹
۱-۶- مکانیسم عمل آنتی‌بیوتیک‌ها در بهبود سیستم ایمنی ۱۰
۱-۷- گیاه درمانی در طیور ۱۲
۱-۷-۱- مزایای اصلی استفاده از افزودنی‌های گیاهی در دام و طیور ۱۲
۱-۷-۲- اثرات فیزیولوژیکی گیاهان دارویی در دام و طیور ۱۳
۱-۸- اهمیّت ایمنی‌شناسی و عکس العمل‌های ایمنی در طیور ۱۴
۱-۸-۱- سیستم ایمنی پرندگان ۱۴
۱-۸-۲- بورس فابریسیوس ۱۵
۱-۸-۳- تیموس ۱۶
۱-۸-۴- مکانیسم پاسخ ایمنی ۱۷
۱-۸-۵- انواع سلول‌های خونی موثر در پاسخ ایمنی ۱۸
۱-۸-۶- طبقه‌بندی پاسخ‌های ایمنی ۱۹
۱-۸-۶-۱- ایمنی ذاتی ۱۹
الف- ژنتیک ۲۰
ب- ساختار آناتومیک ۲۰
پ- جمعیّت میکروبی طبیعی ۲۰
ت- مژه‌های تنفسی ۲۰
۱-۸-۶-۲- ایمنی اکتسابی ۲۱
الف- ایمنی هومورال ۲۱
ب- ایمنی سلولی ۲۲
۱-۸-۷- آنتی‌بادی، تولید و مکانیسم عمل آن ۲۳
۱-۸-۸- انواع ایمونوگلوبولین‌ها ۲۶
۱-۸-۸-۱- ایمونوگلوبولین Y ۲۶
۱-۸-۸-۲- ایمونوگلوبولین M ۲۷
۱-۸-۸-۳- ایمونوگلوبولین A ۲۸
۱-۸-۹- ساختمان ایمونوگلوبولین‌ها ۲۸
فصل دوّم: مواد وروش‌ها
۲-۱- محل و زمان اجرای تحقیق ۳۱
۲-۲- آماده‌سازی سالن ۳۱

۲-۳- طرح آزمایشی ۳۱
۲-۴- شرایط محیطی پرورش ۳۲
۲-۴-۱- دما ۳۲
۲-۴-۲- روشنایی ۳۳
۲-۴-۳- تهویه ۳۳
۲-۴-۴- دان‌خوری و آب‌خوری ۳۳
۲-۴-۵- برنامه واکسیناسیون ۳۳
۲-۴-۶- جیره غذایی ۳۴
۲-۵- مواد و وسایل مورد نیاز ۳۵
۲-۶- عصاره‌گیری ۳۶
۲-۶-۱- طرز تهیه پودر برگ استویا ۳۶
۲-۶-۲- روش عصاره‌گیری ۳۶
۲-۶-۳- روش حل کردن عصاره ۳۶
۲-۷- طرز تهیه فسفات بافر سالین (PBS) ۳۷
۲-۸- طرز تهیه محلول اتیلن دی آمین تترا استیک اسید ۳۷
۲-۹- مراحل آماده‌سازی گلبول قرمز گوسفند (SRBC) ۳۸
۲-۱۰- اندازه‌گیری پاسخ ایمنی هومورال ۳۸
۲-۱۰-۱- تزریق SRBC به عضله سینه ۳۸
۲-۱۰-۲- نمونه‌گیری ۳۹
۲-۱۰-۳- آزمایش هماگلوتیناسیون (HA) برای اندازه‌گیری عیار Anti-SRBC ۳۹
۲-۱۱- آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) ۴۰
۲-۱۱-۱- آزمایش HA برای تعیین قدرت ویروس نیوکاسل ۴۰
۲-۱۱-۲- آزمایش تیتراسیون معکوس ۴۱
۲-۱۱-۳- آزمایش HI برای تعیین عیار آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل ۴۱
۲-۱۱-۴- روش تهیه گلبول قرمز جوجه (RBC1%) ۴۲
۲-۱۲- شاخص‌های مورد اندازه‌گیری ۴۳
۲-۱۲-۱- مصرف خوراک روزانه ۴۳
۲-۱۲-۲- افزایش وزن روزانه ۴۴
۲-۱۲-۳- ضریب تبدیل خوراک ۴۴
۲-۱۲-۴- تفکیک لاشه ۴۴
۲-۱۳- تجزیه و تحلیل آماری ۴۵

فصل سوّم: نتایج و بحث

۳-۱- تأثیر تیمارهای مختلف روی عملکرد طیور ۴۷
۳-۱-۱- مصرف خوراک روزانه ۴۷
۳-۱-۲- افزایش وزن روزانه ۴۸

۳-۱-۳- ضریب تبدیل خوراک ۴۹
۳-۲- بررسی صفات لاشه ۵۰
۳-۳- اثر عصاره استویا بر عیار آنتی‌بادی علیه SRBC تزریق شده ۵۲
۳-۴- اثر عصاره استویا بر عیار آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل ۵۴
۳-۵- نتیجه‌گیری ۶۲
۳-۶- پیشنهادها ۶۳
منابع ۶۵

جدول ۱-۱- ایزوتوپ‌های عمده ایمونوگلوبولین ۲۹
جدول ۲-۱- برنامه زمان‌بندی واکسیناسیون جوجه‌ها در دوره پرورش ۳۴
جدول ۲-۲- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره غذایی ۳۵
جدول ۲-۳- مقادیر مورد نیاز جهت ساخت فسفات بافر سالین (PBS) ۳۷
جدول ۲-۴- مقادیر مورد نیاز جهت ساخت محلول اتیلن دی امین تترا استیک اسید (EDTA) ۳۷
جدول ۳-۱- اثر سطوح مختلف عصاره استویا بر مصرف خوراک روزانه ۴۷
جدول ۳-۲- اثر سطوح مختلف عصاره استویا بر افزایش وزن روزانه ۴۸
جدول ۳-۳- اثر سطوح مختلف عصاره استویا بر ضریب تبدیل خوراک ۴۹
جدول ۳-۴- اثر سطوح مختلف عصاره استویا بر بازده و نسبت اجزای لاشه قابل طبخ به وزن زنده ۵۰
جدول ۳-۵- اثر سطوح مختلف عصاره استویا بر وزن بورس، تیموس و طحال به وزن زنده ۵۱
جدول ۳-۶- اثر سطوح مختلف عصاره استویا بر میانگین عیار آنتی‌بادی تام علیه SRBC ۵۲
جدول ۳-۷- اثر سطوح مختلف عصاره استویا بر میانگین عیار IgG ۵۳
جدول ۳-۸- اثر سطوح مختلف عصاره استویا بر میانگین عیار IgM ۵۳
جدول ۳-۹- اثر سطوح مختلف عصاره استویا بر میانگین عیار آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل ۵۴

شکل ۱-۱- گیاه استویا در مرحله گلدهی ۵
شکل ۱-۲- کشت استویا در ایران ۷
شکل ۱-۳- ساختار شیمیایی دی‌ترپن گلیکوزیدهای موجود در استویا ۸
شکل ۱-۴- تقسیم لنفوست B بعد از مواجهه با آنتی‌ژن ۲۲
شکل ۱-۵- الگوی تولید آنتی‌بادی پس از ورود آنتی‌ژن به بدن ۲۴
شکل ۱-۶- ساختمان ایمونوگلوبولین M ۲۷
شکل ۱-۷- ساختمان ایمونوگلوبولین G ۲۹
شکل ۲-۱- مراحل مختلف عصاره‌گیری ۳۶
شکل ۲-۲-مراحل آماده‌سازی گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) ۳۸
شکل ۲-۳- مراحل آماده‌سازی سرم خون ۳۹
شکل ۲-۴- مراحل انجام آزمایش HA ۴۰
شکل ۲-۵- آزمایش تیتراسیون معکوس ۴۱
شکل ۲-۶- مراحل انجام آزمایش HI ۴۳
شکل ۲-۷- تفکیک اجزای لاشه ۴۵
شکل ۲-۸- تیموس ۴۵

چکیده

اثر عصاره استویا (*Stevia rebaudiana*) بر سیستم ایمنی و عملکرد تولیدی جوجه‌های گوشتی

زهرا بشارتی

هدف این تحقیق بررسی اثر مقادیر مختلف عصاره الکلی گیاه استویا بر عملکرد و سیستم ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی بود. تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه از سویه تجاری راس ۳۰۸ از طریق طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۱۰ مشاهده در هر تکرار بررسی شدند. مقادیر ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌لیتر عصاره الکلی برگ استویا به هر لیتر آب مصرفی جوجه‌ها از روز ۵ تا ۴۲ پرورش افزوده شد. مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک و نسبت اجزای لاشه به وزن زنده اندازه‌گیری شد. پاسخ ایمنی هومورال با اندازه‌گیری عیار آنتی‌بادی سرم در روزهای ۲۸، ۳۵ و ۴۲ پرورش در واکنش به تزریق عضلانی ۰/۱ mL محلول ۲۵ درصد گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) در روزهای ۱۲ و ۲۹ پرورش تعیین شد. جوجه‌ها واکسن نیوکاسل را در ۱ ، ۶، ۱۸ و ۲۹ روزگی دریافت کردند و در ۴۲ روزگی عیار آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل با روش HI تعیین شد. نتایج نشان داد که عصاره الکلی استویا نتوانست تاثیر معنی‌داری بر عملکرد تولیدی داشته باشد (P>۰/۰۵). همه تیمارهای آزمایشی باعث افزایش عیار آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل شدند (P<۰/۰۵). تیمارهای دریافت کننده ۱/۵ و ۲ mL عصاره، عیار آنتی‌بادی علیه SRBC بیش‌تری نسبت به تیمار شاهد داشتند (P<۰/۰۵). در شرایط این تحقیق عصاره الکلی برگ استویا تأثیر معنی‌داری بر عملکرد تولیدی جوجه‌ها نداشت ولی پاسخ‌های ایمنی هومورال را بهبود بخشید.

کلید واژه: استویا، عملکرد تولیدی، سیستم ایمنی، جوجه گوشتی

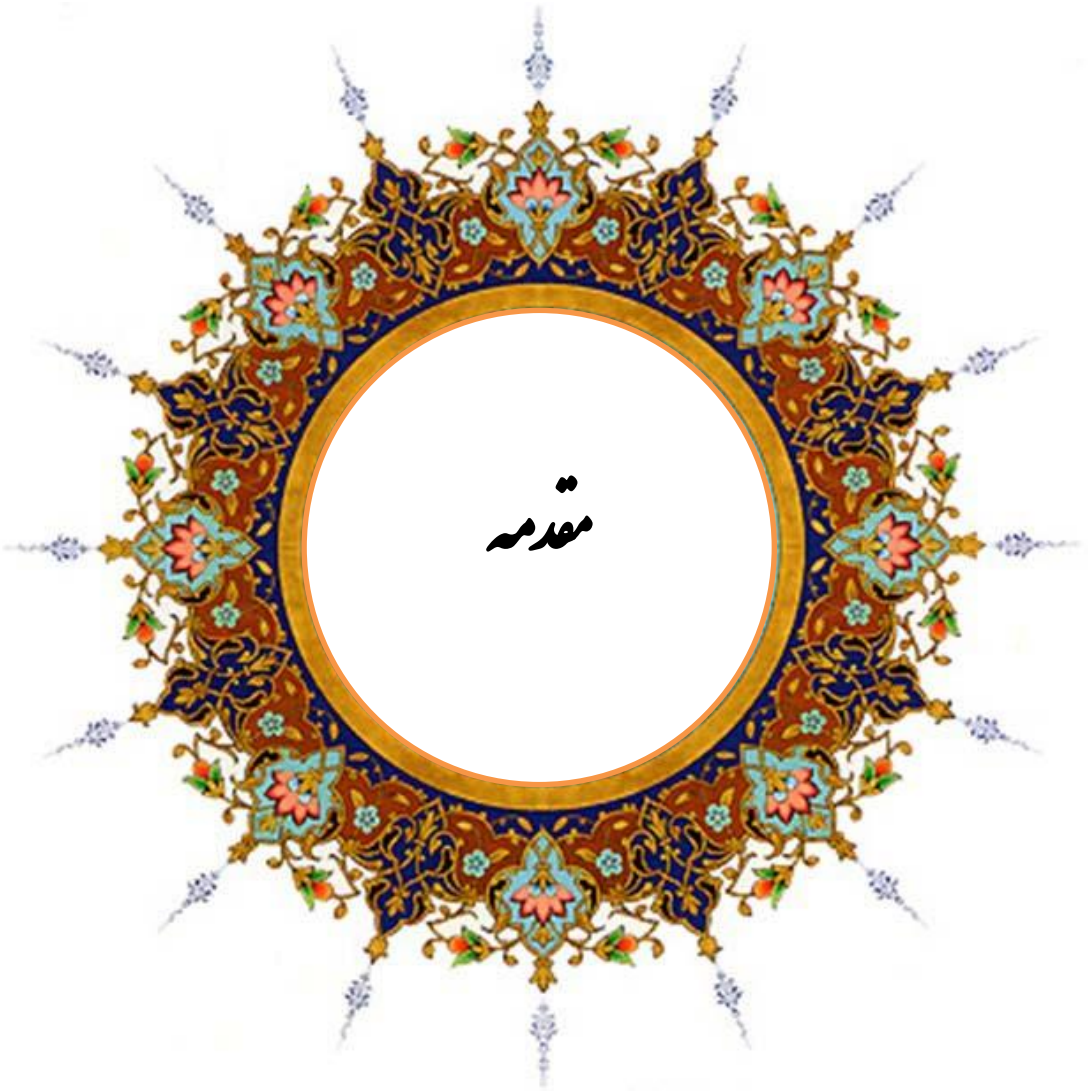
Abstract

Effect of Stevia (*Stevia rebaudiana*) extract on immune system and performance of broilers.

Zahra Besharati

Effects of different levels of Stevia alcoholic extract were studied on humoral immune system and performance of 200 one-day chicks (Ross 308) in a completely randomized design with 5 treatments, 4 replications and 10 observations per replicate. The treatment groups received 0 (control), 0.5, 1, 1.5 and 2 mL/L of Stevia extract, in drinking water, respectively, during days 5 to 42. Daily feed intake, daily body weight gain, feed conversion ratio (performance) and carcass quality were measured. The birds were immunized with sheep red blood cell (SRBC) on days 12 and 29 of age and serum antibody levels produced in response to SRBC were measured on days 28, 35, and 42. Newcastle vaccine administrated on days 1, 6, 18 and 29 to chicks and blood samples were collected on day 42. Antibody titer against Newcastle virus was determined by the HI method. Result indicated that Stevia alcoholic extract hadn't any significant effect on performance ($P>0.05$). All experimental groups increased antibody titer against Newcastle virus ($P<0.05$). Consumption of 1.5 and 2 mL Stevia extract increased anti SRBC titers ($P<0.05$). It is concluded that Stevia alcoholic extract had no significant effect on performance and 1.5 and 2% Stevia extract improved humoral immunity of broilers.

Key words: Stevia (*Stevia rebaudiana*), Immune system, Production, Performance, Broiler chicks


مقدمه

پرورش طیور گوشتی در چند ساله اخیر با توجّه به نقش و اهمیّت خاصی که در تأمین پروتئین حیوانی مورد نیاز انسان دارد رشد چشم‌گیری داشته است و به صنعتی عظیم تبدیل شده است. صنعتی شدن پرورش طیور، رشد مناسب، کاهش ضریب تبدیل غذایی و کاهش فضای پرورش را به‌دنبال داشته و در حال حاضر، هدف از پرورش طیور تجارتی، رسیدن به بالاترین وزن نهایی به ازای هر واحد مصرف خوراک است. بین صفات تولیدی و پاسخ‌های سیستم ایمنی و صفات مربوط به مقاومت به بیماری‌ها همبستگی منفی وجود دارد. به‌عنوان مثال این همبستگی منفی بین تولید و ایمنی باعث می‌شود که در سویه‌های پرتولید عملکرد و تکامل سیستم ایمنی ضعیف‌تر باشد. ژنوتیپ‌هایی با وزن نهایی حداکثر نسبت به سویه‌هایی با وزن نهایی پایین‌تر، پاسخ‌های ایمنی ضعیف‌تری را در برابر آلودگی‌ها از خود نشان می‌دهند. بنابراین امروزه درآمیخته‌های حاصل از سویه‌های تجارتی احتمال بروز هر نوع اختلال در پاسخ‌های ایمنی بیش از هر زمانی احساس می‌شود [جوانمردی و همکاران، ۱۳۸۹].

جیره نویسی در طیور عمدتاً براساس شاخص‌های تولیدی مانند رشد، تولید تخم‌مرغ و بازده مصرف خوراک انجام می‌شود و غالباً به معیارهای لازم برای پاسخ‌های سیستم ایمنی توجّه نمی‌شود در حالی‌که مواد مغذی می‌توانند روی تکامل سیستم ایمنی و حجم آنتی‌بادی تولیدی تأثیر گذار باشند. اثر متقابل بین مواد مغذی متنوع و عدم توازن نسبت‌ها منجر به اختلال در فیزیولوژی طبیعی جوجه و متعاقباً اختلال در عملکرد سیستم ایمنی می‌شود [جوانمردی و همکاران، ۱۳۸۹].

استفاده از افزودنی‌های غذایی در تغذیه طیور به‌عنوان یک راه حل در بهره‌وری بیش‌تر از خوراک توسط حیوان محسوب می‌شود. آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله افزودنی‌های غذایی هستند که به‌منظور جلوگیری از رشد عوامل بیماری‌زای روده‌ای، تحریک رشد و بهبود عملکرد در تغذیه طیور به‌کار می‌روند. ایجاد مقاومت در عوامل بیماری‌زا و امکان باقیماندن آنتی‌بیوتیک‌ها در محصولات تولیدی، از معایبی است که استفاده از آنها را در تغذیه دام و طیور به‌عنوان محرک رشد محدود کرده است. بنابر اعلام مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی، در طی ۵ سال گذشته بیش از یک میلیون تن آنتی‌بیوتیک در بیوسفر رها شده است و در حدود ۵۰ درصد از این مقدار در مصارف دامی و کشاورزی استفاده شده است [جوانمردی و همکاران، ۱۳۸۹].

انتخاب طیور برای رشد سریع‌تر تا حدودی باعث کاهش پاسخ ایمنی در آنها می‌شود از سوی دیگر محدودیت کاربرد آنتی‌بیوتیک‌ها، شکست واکسیناسیون و بیماری‌های تضعیف کننده سیستم ایمنی تمایل به استفاده از گیاهان دارویی که بتوانند هم سیستم ایمنی را تقویت نموده و هم اثر ضد میکروبی داشته باشند را افزایش داده است. البته واکسن‌ها خواص تحریک ایمنی دارند ولی به‌تنهایی برای حفاظت پرنده در مقابل عوامل بیماری‌زا کافی نیستند و در ضمن واکسن‌ها خواص بهبود رشد ندارند [جوانمردی و همکاران، ۱۳۸۹].

بسیاری از داروهای گیاهی و گیاهان دارویی منابع خوبی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند و در سال‌های اخیر تمایل زیادی برای استفاده از پتانسیل گیاهی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در کاهش رادیکال‌های آزاد ناشی از آسیب‌های بافتی به‌وجود آمده است و جستجو برای یافتن گونه‌های گیاهی جدید حاوی آنتی‌اکسیدان ادامه دارد. با توجّه به مطالعاتی که روی گیاه استویا صورت گرفته، سطوح بالای ترکیبات فنولی در عصاره الکلی و آبی آن می‌تواند رادیکال‌های آزاد را مهار کرده و به واکنش‌های زنجیره‌ای آنها پایان دهد و به‌عنوان یک جایگزین مناسب و یا مکمل غذایی و یک ماده آنتی‌اکسیدان طبیعی استفاده شود [Schuler, 1990; Shukla et al., 2011].

تعدیل یا تنظیم پاسخ‌های ایمنی به‌منظور بهبود و کنترل بیماری‌ها، سال‌ها است که مد نظر محققان است. پاسخ‌های سیستم ایمنی می‌تواند توسط عوامل متعددی از جمله برخی ترکیب‌های موجود در باکتری‌ها، قارچ‌ها، گیاهان و نیز محصولات مصنوعی تنظیم شود. گیاهان دارویی به‌عنوان یکی از منابع غنی از مواد تنظیم کننده سیستم ایمنی[1] هستند. مطالعات فراوانی در مورد اثرهای تنظیم کنندگی سیستم ایمنی گیاهان دارویی در کشورهای با سابقه طب سنتی صورت گرفته است. در کشور ما به‌رغم گنجینه غنی طب سنتی ایران و منابع گیاهان دارویی متأسفانه کمتر به این موضوع پرداخته شده است [ناصری، ۱۳۸۳] و [Borchers et al., 1997].

قرن‌ها در بین قبایل Guaraní در پاراگوئه و بولیویا گیاه استویا را با نام ka'a he'ê (علف شیرین) می‌شناختند و به‌عنوان شیرین کننده در چای‌های دارویی برای درمان سوزش معده، رماتیسم و آسم به‌کار می‌بردند [Geuns, 2003]. محققین طی تحقیقات مختلف ثابت کردند که این گیاه دارای ویژگی‌های ضد باکتریایی، ضد ویروسی و ضد تومور است. با وجود خاصیّت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی، استویا می‌تواند به‌عنوان یک افزودنی گیاهی مورد استفاده قرار گرفته و روی سیستم ایمنی طیور موثر باشد [Konoshima and Takasaki, 2002; Kedik et al., 2009; Shukla et al., 2011].

لذا با توجّه به بررسی‌های اولیّه انجام شده در مورد آنالیز ترکیبات مختلف موجود در گیاه استویا و اثر بالقوه آنتی‌اکسیدانی آن، در این تحقیق اثرات مختلف گیاه استویا روی عملکرد تولیدی و سیستم ایمنی جوجه گوشتی بررسی شد.

1. Immunomodulatory

فصل اوّل

کلیات و بررسی منابع

۱-۱- آشنایی با گیاه استویا

استویا (*Stevia rebaudiana*) گیاهی از خانواده Asteraceae، چند ساله و بومی نواحی شمالی آمریکای جنوبی است و به‌طور وحشی در سرزمین‌های بلند مناطق مرزی بین برزیل و پاراگوئه می‌روید [Gujral, 2004]. برگ استویا به‌دلیل شیرین بودن، برگ قندی، برگ عسلی، برگ شیرین، علف شیرین، برگ آبنباتی و برگ شیرین پاراگوئه نامیده می‌شود. این گونه‌ها ابتدا توسط گیاه‌شناس و پزشک اسپانیایی "جیم استو پدرو[۱]" یافته شدند. استویا لقبی بود که این گیاه‌شناس و پزشک بر این گیاه نهاد. مصرف گیاه به‌عنوان یک شیرین کننده به آمریکای جنوبی باز می‌گردد. در سال ۱۸۸۷ برتونی[۲] گیاه‌شناس سوئیسی در حین تحقیقاتش در شرق پاراگوئه، استویا و خاصیّت شیرین کنندگی آن را با جزئیات شرح داد و بعد از آن به خارج از آمریکای جنوبی معرفی شد [Carakostas et al., 2008]. تحقیقات اندکی در این زمینه انجام گرفته بود تا اینکه در سال ۱۹۱۰ دو شیمیدان فرانسوی گلیکوزیدهایی را که باعث شیرینی استویا می‌شوند، جدا کردند. آنها این ترکیبات را استویوزاید[۳] و ربادیوزاید[۴] نامیدند. این ترکیبات ۳۰۰-۲۵۰ برابر شیرین‌تر از ساکارز، مقاوم به حرارت و غیر قابل تخمیر هستند [Koyama et al.,2003]. از آنجایی که گلیکوزیدهای استویا قابلیت متابولیسم را ندارند، می‌توان گفت که این گیاه بدون کالری است [Geuns, 2003].

شکل ۱-۱- گیاه استویا در مرحله گلدهی

1. Jaime Esteve Pedro
2. Antonio Bertoni
3. Stevioside
4. Rebaudioside

استویا گیاهی است علفی و حساس به سرما که ارتفاع آن به یک متر نیز می‌رسد. این گیاه دارای برگ‌های کوچک است که به‌صورت متناوب روی ساقه قرار گرفته‌اند. با کوتاه شدن روز و سرد شدن هوا شرایط گلدهی فراهم می‌شود. گل‌ها کوچک، سفید و در قسمت میانی بنفش کمرنگ‌اند که به‌صورت خوشه‌ای روی ساقه ظاهر می‌شوند. تولید انبوه و تکثیر این گیاه قندی از طریق روش‌های کشت بافت انجام می‌شود [Brandle et al., 1998]. در سال‌های اخیر کشت استویا تجاری شده و به‌عنوان یک شیرین کننده طبیعی در بسیاری از کشورها از جمله پاراگوئه، برزیل، ژاپن، چین، کره، آمریکا، کانادا و بخش‌هایی از اروپا استفاده می‌شود [Kim et al., 2002].

جدیدترین تحقیقات پزشکی تأثیر ضد ویروسی، جلوگیری از افزایش فشار و قند خون و خاصیّت درمانی بر رماتیسم و آسم را نشان داده اند [Cariño-Cortés et al., 2007]. استویا اثر ناچیزی بر افزایش قند خون دارد و حتّی باعث افزایش تحمل گلوکز می شود، بنابراین بسیار مورد توجّه افراد مبتلا به دیابت و افرادی که محدودیت مصرف مواد قندی دارند، قرار گرفته است [Tadhani et al., 2007].

آزمایشات نشان داده‌اند که این گیاه حاوی استرول[۱]، فلاونوئید[۲]، تری‌ترپن[۳]، مونوترپن[۴]، سسکوئیترپن[۵]، تانن[۶] و کلروفیل کلروفیل بوده [Arya et al., 2012; Gardana et al., 2010]. و وجود ترکیبات فنولی در برگ‌ها و کالوس این گیاه با خاصیّت مؤثر آنتی‌اکسیدانی قادر است رادیکال‌های آزاد را مهار کند و موجب خاصیّت درمانی استویا شود [Shukla et al., 2011]. اثرات ضد توموری [Konoshima and Takasaki, 2002]، ضد باکتریایی، ضد ویروسی [Kedik et al., 2009] و ضد قارچی استویا ثابت شده و هم‌چنین گزارش شده این گیاه اثرات التیام‌آوری روی آسیب‌های پوستی شامل زخم، بریدگی و خراش داشته و قادر به کاهش علائم سرماخوردگی و آنفلوانزا است [Gujral, 2004].

۱-۲- ترکیب شیمیایی استویا

برگ استویا حاوی مخلوطی از دی‌ترپن گلیکوزیدهای طبیعی شامل استویوزاید (۱۳-۴٪ وزن خشک)، استویوبیوزاید[۷] (به‌مقدار جزئی)، ربادیوزاید A (۴-۲٪)، B (جزئی)، C (۲-۱٪)، D و E (جزئی) و دولکوزاید A (۰/۷-۰/۴٪) است. برگ استویا هم‌چنین دارای ۶/۲٪ پروتئین، ۵/۶٪ لیپید، ۵۲/۸٪ کربوهیدرات و حدود ۴۲٪ مواد محلول در آب است. ترکیبات غیر شیرین استویا شامل: لبدان[۸]، استرول، ترکیبات فنولی، رنگدانه و اسیدهای آلی است. این گیاه حاوی ویتامین‌ها و مواد

1. Sterols
2. Flavonoids
3. Triterpenes
4. Monoterpenes
5. Sesquiterpenpenes
6. Tannins
7. Steviolbioside
8. Lebdan

معدنی از جمله منیزیم، ویتامین B3 (نیاسین)، ریبوفلاوین، روی، کرم، سلنیوم، پتاسیم و سدیم است [Scientific Committee on Food, 1999; Gardana, 2010].

۱-۳- استویا در ایران

در ایران این گیاه از اقلام کشاورزی خوش آتیه محسوب می‌شود. در سواحل معتدل شمال کشور که پایگاه‌های شناخته شده برنج هستند، نشای استویا را می‌توان در خارج از گلخانه، یعنی در فضای آزاد نیز انجام داد. بنابراین مقایسه این دو، میدان انتخاب بسیاری از کشاورزان گیلانی، مازندرانی و گلستانی در آینده خواهد بود:

۱- برنج، بیش از دو ماه آبیاری غرقابی نیاز دارد، در حالی‌که استویا نیازمند هفته‌ای سه یا چهار بار آبیاری است که می‌تواند بارانی، و با ساده‌ترین تجهیزات باشد.

۲- برنج را هر سال باید نشا کرد، حال آن‌که گیاه استویا پس از نشاکاری، سه سال (و طبق برخی گزارش‌ها تا پنج سال) محصول می‌دهد.

۳- برنج را فقط سالی یک‌بار و استویا را دو یا چند بار می‌توان برداشت کرد.

۴- هزینه‌ها و عملیات عمده داشت گیاه استویا به جز آبیاری، تقریباً منحصر به وجین کردن (حذف علف‌های هرز) است.

۵- در مساحت‌های مساوی، قیمت برگ سبز برداشت شده در یک‌سال، بیش از قیمت برنج برداشت شده است.

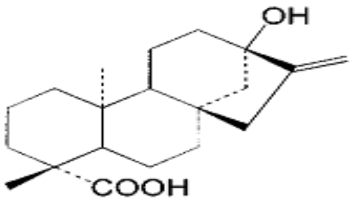
در ایران، شرایط دما و نور کافی برای کشت گیاه استویا مساعد است و در حال حاضر در شهرستان‌های رودسر، تالش، املش، سیاهکل، رودبار و آستانه اشرفیه کشت می‌شود.

شکل ۱-۲- کشت استویا در ایران

۱-۴- دی‌ترپن گلیکوزیدهای موجود در گیاه استویا

گیاه استویا دارای دی‌ترپن گلیکوزیدهایی شامل استویوزاید، استویوبیوزاید، ربادیوزاید (A,B,C,D,E) و دولکوزاید A[1] است. تمام این‌ها دارای ساختار شیمیایی مشابه استویول هستند امّا از نظر کربوهیدرات متصل به کربن شماره ۱۳ و ۱۹ با هم متفاوتند [Brandle et al., 2002].

ساختار دقیق گلیکون و گلیکوزید در سال ۱۹۵۵ منتشر شد. استویول واحد سازنده اصلی گلیکوزیدهای شیرین استویا است. استویوزید و ربادیوزاید به‌ترتیب با جایگزینی اتم هیدروژن پایینی با گلوکز و اتم هیدروژن بالایی با دو یا سه گروه گلوکز متصل به هم شکل گرفته‌اند. بیش‌ترین ترکیب موجود در برگ خشک استویا، استویوزاید و ربادیوزاید A است که تا بیش از ۱۰% وزن خشک برگ را تشکیل می‌دهند [Gardana et al., 2010].



Steviol

	R	R_1
Stevioside	β-Glc	β-Glc^2–β-Glc
Steviolbioside	H	β-Glc^2–β-Glc
Rebaudioside A	β-Glc	β-Glc^2–β-Glc |^3 β-Glc
Rebaudioside B	H	β-Glc^2–β-Glc |^3 β-Glc
Rebaudioside C	β-Glc	β-Glc^2–α-Rha |^3 β-Glc
Rebaudioside D	β-Glc^2–β-Glc	β-Glc^2–β-Glc |^3 β-Glc
Rebaudioside E	β-Glc^2–β-Glc	β-Glc^2–β-Glc
Dulcoside A	β-Glc	β-Glc^2–α-Rha

شکل ۱-۳- ساختار شیمیایی دی‌ترپن‌گلیکوزیدهای موجود در استویا

[1] Dulcoside

۱-۵- خاصیّت آنتی‌اکسیدانی و تقویت کننده سیستم ایمنی گیاه استویا

ترکیبات واکنش‌گر اکسیژن ROS[1] به‌طور مداوم در بدن تولید و به‌وسیله آنتی‌اکسیدان‌های موجود در بدن سم‌زدایی می‌شوند. با این حال افزایش تولید ROS و یا دفاع آنتی‌اکسیدانی ناکافی می‌تواند باعث آسیب اکسیداتیو مولکول‌های زیستی مختلف از جمله پروتئین‌ها، لیپیدها، لیپوپروتئین‌ها و DNA شود بنابراین برای جلوگیری از عمل مخرب رادیکال-های آزاد، بدن باید حاوی یک سدّ دفاعی شامل انواع مختلفی از آنتی‌اکسیدان‌ها باشد.

آنتی‌اکسیدان‌ها به دو دسته تقسیم می‌شوند. یک گروه محلول در آب هستند و اکسیدان‌های موجود در مایع سلولی و پلاسمای خون را از بین می‌برند و گروه دیگر که محلول در چربی هستند از غشای سلولی محافظت می‌کنند. این ترکیبات از دو طریق تأمین می‌شوند:

۱- آنتی‌اکسیدان‌های مواد مغذی (ویتامین‌ها و املاح معدنی)

۲- آنزیم‌ها (پروتئین‌های موجود در بدن که در واکنش‌های شیمیایی نقش کمکی دارند)

آنتی‌اکسیدان‌ها با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد فرآیند اکسیداسیون را متوقّف می‌کنند. برای انجام این کار خود آنتی-اکسیدان‌ها اکسیده می‌شوند. به همین دلیل دائماً به وجود منابع آنتی‌اکسیدانی در بدن نیاز است. سطوح بالای ترکیبات فنولی در پودر و عصاره استویا، دارای خاصیّت آنتی‌اکسیدانی است و فلاونوئیدهای موجود در آن می‌توانند رادیکال‌های آزاد را مهار کرده و به واکنش‌های زنجیره‌ای آنها پایان دهند [Halliwell and Gutteridge 2007; Bendich, 1993].

پراکسیداسیون لیپید یک واکنش مهّم خسارت‌آور است که در طول ذخیره‌سازی نه تنها باعث تغییر در کیفیت غذا می‌شود بلکه مرتبط با برخی از بیماری‌ها از قبیل سرطان و مشکلات قلبی _ عروقی و سندرم روده التهابی و آلزایمر است [Ahmadi et al., 2007]. بسیاری از اعمال محافظتی سلول‌های ایمنی به سیال بودن[2] غشای سلول بستگی دارد. وقتی غلظت اسیدهای چرب غیر اشباع در غشا سلول افزایش می‌یابد، پتانسیل پراکسیداسیون چربی غشا به‌وسیله رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد. پراکسیداسیون چربی، سیالیت غشا را کاهش داده و باعث تضعیف سیستم ایمنی می‌شود. مواد آنتی-اکسیدانی از این عمل جلوگیری می‌کنند [Bendich, 1993].

تحقیقات نشان داده است که گیاه استویا دارای دی‌ترپن و تری‌ترپن است که خواص ضد میکروبی دارند و به آن خاصیّت ضد باکتریایی و قارچ می‌دهد [Gujral, 2004]. گیاهان غنی از فلاونوئیدها و ترکیبات ترپنی، با افزایش فعالیت ویتامین C و با اثر ضد باکتریایی خود موجب تقویت سیستم ایمنی حیوانات می‌شوند [Raberfoid, 1998].

---

1. Reactive oxygen species
2. Fluidity