بسم الله الرحمن الرحيم

ISSN۹۸۸۰-۱۷۳۵

فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری

علمی-پژوهشی

شماره پیاپی ۵۳ **جلد ١٤، شماره ۲، بهار ١٤٠٠**

صاحب امتیاز : دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

مدیـر مسئول : مهدی رهنما

ســــــــردبــیر : محمد مرادی

اعضاء هیئت تحریریه (به ترتیب حرف الفبا):

بهروز ابطحی دانشگاه شهید بهشتی دانشیار فیزیولوژی ماهیان

جواد بهار آرا دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد استاد تکوین جانوری

محمد رضا بیگدلی دانشگاه شهید بهشتی دانشیار فیزیولوژی پزشکی

مهین گنج خانی دانشگاه علوم پزشکی زنجان،دانشیار فیزیولوژی جانوری

مهدی رهنما دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان دانشیار فیزیولوژی جانوری

مسعود اربابی موسسه تحقیقات گیاه پزشکی ، استاد حشره شناس

شهربانو عریان دانشگاه خوارزمی تهران استاد فیزیولوژی جانوری

محمد مرادی دانشگاه زنجان استاد زیست شناسی جانوری

مختار مختاری دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون استاد فیزیولوژی جانوری

هیات اجرایی :

مدیر داخلی : **دکترشهرزاد نصیری سمنانی**

ویراستار علمی : **دکتراحمد مجد**

ویراستار انگلیسی : **دکترسعید آیریان**

ویراستار ادبی: **دکترتورج عقدایی**

ویراستار استنادی : **دکترحامد علیزاده**

کارشناس مجله **دکترآرش شمس**

ناشر : انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

مسئول نمایه سازی : دکترآرش شمس

طراحی و صفحه آرایی : حسن بابایی

نشانی : زنجان، اعتمادیه ، خیابان معلم ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان ، دفتر مجله فیزیولوژی و تکوین جانوری

صندوق پستی ۱۴۶۴- ۴۵۱۹۵

تلفاکس : ۳۳۴۶۵۸۹۰-۰۲۴

آدرس پست الکترونیکی : qjaphd@ iauz.ac.ir

آدرس وب سایت : Qjaphd.sinaweb.net

قیمت : ۲۰۰۰۰۰۰ ریال

نقل مطالب با ذکر ماخذ بلامانع است

مقالات این فصلنامه در پایگاه استنادی علوم جهان اسلام (ISC)، مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID) و بانک اطلاعات نشریات کشور (Magiran) و گوگل اسکولار نمایه می گردد.

براساس نامه شماره (۳/۱۸/۵۳۷۱۱۳-۹۲/۱۰/۲۲) وزارت علوم تحقیقات و فناوری،به این فصلنامه رتبه**علمی پژوهشی**اعطا گردیده است.

راهنمای تنظیم و تدوین مقاله در فصل نامه فیزیولوژی و تکوین جانوری

دانشگاه آزاداسلامی واحد زنجان

مقاله‌های پژوهشی در زمینه‌های مختلف مرتبط با فیزیولوژی و تکوین جانوری منوط به این که دارای نوآوری بوده و تاکنون متن کامل آن در سایر مجلات به چاپ نرسیده باشند، برای چاپ پذیرفته می‌شوند.

نحوه پذیرش مقاله

الف- مقاله به زبان فارسی و چکیده آن به زبان انگلیسی تدوین شود.

ب- مطالب هر مقاله به صورت زیر تنظیم شود:

عنوان مقاله می‌بایست کوتاه و بیان گر محتوای مقاله و حداکثر در ۲۰ کلمه تنظیم شده باشد.

اسامی‌نویسندگان در زیر عنوان مقاله آورده شود. نشانی کامل محل کار نویسندگان، با ذکر شماره در زیر اسامی‌نویسندگان در صفحه اول آورده شود. لازم است که نشانی پست الکترونیکی نویسنده مسئول مکاتبات به طور کامل ذکر شود. اسم نویسنده مسئول Bold و زیر آن خط دار باشد.

چکیده مقاله به زبان فارسی و انگلیسی باید مجموعه‌ای فشرده و گویا از مقاله با تاکید بر زمینه و هدف، روش کار، یافته ها و نتیجه گیری به دست آمده باشد و از ۲۵۰ کلمه (حدود ۲۰ سطر) بیشتر نباشد.

واژه های کلیدیدر انتهای چکیده مقاله متناسب با متن مقاله به تعداد ۳ الی ۵ واژه آورده شود.

مقدمه با طرح مساله و بیان پژوهش‌های انجام شده، لزوم انجام پژوهش را توجیه نماید.

مواد و روش‌ها شیوه اجرای پژوهش و نحوه پردازش آماری داده‌ها در این بخش ارائه گردد.

نتایج در این بخش از توضیحات مختصری استفاده شود و آنالیز آماری آن ها به صورت متن، شکل، نمودار و یا جدول ارائه شود. نتایج به یک شیوه ارائه گردد. شکل‌ها، نمودارها و جدول‌ها باید گویا و دارای شماره باشند و مشخصات آماری و اطلاعات لازم از قبیل نام محورها، مقیاس و راهنمای نمودار روی آن ها مشخص باشد.

عنوان جدول‌ها در بالا و توضیح شکل‌ها و نمودارها در زیر آن ها به فارسی نوشته شود. اصل نمودارها به صورت دو بعدی بدون حاشیه و تزیینات اضافی تنظیم شود و ابعاد آن ها از ۱۲×۸ سانتی متر بزرگ‌تر نباشد. عکس‌ها به صورت فایل‌های مجزا و با کیفیت مناسب جهت چاپ با نام‌های مشخص روی CDضبط و به دفتر مجله ارسال شود.

عکس‌ها باید دقیق و روشن و به نحوی تهیه شوند که از نظر فنی چاپ آن ها با کیفیت مطلوب در مجله مقدور باشد. عکس‌ها و تصاویر باید دارای شماره گذاری متوالی بوده و ترتیب آن‌ها بر اساس ارجاع به آن‌ها در متن باشد.

ابعاد عکس‌های ارائه شده باید در یک اندازه و از ۱۲×۸ سانتی متر بزرگتر نباشد. در پشت اصل عکس، عنوان مقاله و نویسنده و شماره عکس ذکر گردد. عکس‌ها باید اصل بوده و از ارسال فتوکپی و عکس‌های با کیفیت پایین خودداری و محل دقیق عکس‌ها در متن مشخص شود. بهتر است به صورت یک فایل جداگانه jpg تهیه شود.

بحث و نتیجه گیری با توجه به هدف تحقیق و مقایسه با یافته‌های سایر پژوهش‌ها، تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده انجام شود.

تشکر و قدردانی (در صورت لزوم)

منابع به صورت الفبایی (نام خانوادگی اولین مولف) تنظیم گردد و شماره هر مورد در متن داخل پرانتز آورده شود (مقاله) در نوشتن منابع، در صورت استفاده از منابع فارسی ابتدا این منابع و سپس منابع خارجی آورده شود.

مقاله: نام خانوادگی و نام نویسنده (نویسندگان)، تاریخ انتشار، عنوان مقاله، نام اختصاری مجله، شماره و دوره مجله، صفحات اول و آخر مقاله استفاده شده.

نمونه فارسی:

۱- پورغلام ، ر.، اسماعیلی، ف.، فرهومند، ه.، سلطانی، م.، یوسفی، پ .، مهداد، ح. ۱۳۸۰. بررسی مشخصه های خونی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharygondon idella*) بعد از تماس با سم ارگانوفسفره دیازینون. مجله علمی شیلات ایران. سال سوم . شماره ۲. ص ۱۸-۱.

نمونه انگلیسی:

1. Frieman, S.G., Pearce, F.J. (1982). The role of blood glucose in defense of plasma volume during hemorrhage. J Trauma, 22 (3);86-92.

کتاب: نام خانوادگی و حروف اول نام نویسنده یا نویسندگان. عنوان کتاب. شماره چاپ. شهر محل چاپ: ناشر; سال انتشار، شماره صفحات.

Philips, S. J., Whisnant, J. P. Hypertension and Stroke. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. P.85-93.

مقاله کنفرانس: نام خانوادگی و حروف اول نام نویسنده یا نویسندگان.تاریخ انتشار، عنوان مقاله کنفرانس، نام کنفرانس..

Jamshidi, J., Pouresmaeili, F. (2012). Association of vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms with bone mineral density in a population of Iranian women. European Human Genetics Conference, p. 390.

پایان نامه: نام خانوادگی و حروف اول نام نگارنده.تاریخ انتشار، عنوان پایان نامه. مقطع پایان نامه. دانشگاه و دانشکده. شماره صفحات.

Kaplan, S. J. (1995). Post-hospital home health care: the elderly access and utilization (dissertation). St Louis (MO): Washington University.

پ- اصطلاح.et al پس از نام شش نویسنده می‌آید. بنابراین اگر تعداد نویسندگان بیش از شش نفر باشد پس از نوشتن نام کامل شش نویسنده.et al جایگزین نام نویسندگان بعدی گردد.

ت- معادل اصطلاحات در متن مقاله به زبان فارسی یا لاتین در داخل پرانتز آورده شود (مقاله نباید دارای زیر نویس باشد).

ث- شماره گذاری مقاله از چکیده مقاله شروع شده و تا پایان مقاله ادامه یابد.

ج- مقاله ترجیحاً کم‌تر از ۵ و بیش از ۱۵ صفحه نباشد و با نرم افزار Word2007 تایپ شود. ارسال CD الزامی‌است.

چ- مسئولیت صحت و سقم مطالب هر مقاله بر عهده نویسنده (نویسندگان) آن خواهد بود. ضمناً اسامی‌نویسندگان مقاله (اولویت قرار گرفتن و یا هر گونه تغییر تا پایان بررسی مقاله) صرفاً با امضای نویسنده مسئول امکان پذیر است.

ح- مجله حق رد، قبول، اصلاح، ویرایش و خلاصه نمودن مقاله را برای خود محفوظ می‌دارد. مقالات دریافتی به هیچ عنوان مسترد نخواهد شد.

خ- کلیه مقالات منطبق با شرایط فوق، بلافاصله پس از وصول توسط هیئت تحریریه مورد بررسی قرار گرفته و در صورت تائید مقاله ضمن اعلام به نویسنده، جهت داوری ارسال می‌گردد.

د- مقاله در یک نسخه اصل و سه نسخه کپی از مقاله (نسخ کپی فاقد اسم، آدرس نویسنده و تشکر و قدردانی باشد) به دفتر مجله ارسال گردد. ضمناً توجه گردد همراه مقاله در یک صفحه مجزا عنوان مقاله (فارسی و انگلیسی)، نام و نام خانوادگی نویسندگان (فارسی و انگلیسی)، مرتبه علمیو محل اشتغال آن‌ها به همراه شماره تلفن محل کار و آدرس پست الکترونیکی نویسنده مسئول جهت تسریع در مکاتبات بعدی ذکر شود و یک تعهدنامه با امضای تمام نویسندگان به پیوست آن ارسال گردد.

ذ- در کلیه مراحل بررسی مقاله، ایرادات و اصلاحات مورد نیاز جهت تامین نظر داوری برای نویسنده ارسال می‌شود و در صورت تایید نهایی مقاله ضمن اعلام به نویسنده، در نوبت چاپ قرار می‌گیرد. نسخه های مجله پس از چاپ به تعداد نویسندگان هر مقاله به آدرس نویسنده مسئول ارسال خواهد شد.

فهرست مطالب

◄ **اثر افزودن سطوح مختلف عصاره رازیانه بر میزان باروری مگس سرکه و تاثیر آن بر تراکم پروبیوتیک های موجود در روده آن با تکنیک qReal-Time PCR.....۱**

ابوالحسن رضائی، مسعود قانع، شیدا اخشابی

◄ **مطالعه تأثیر طول بلوک های هاپلوتیپی در بهبود صحت پیش بینی ژنومی به کمک روش های بیزی در گوسفند...۲۵**

رضا سیدشریفی، فاطمه علا نوشهر، نعمت هدایت ایوریق، جمال سیف دواتی

◄ **بررسی رادیولوژی و هیستوپاتولوژی اثرات صمغ کتیرا بر ترمیم نقص استخوان ران خرگوش نیوزلندی.....۳۷**

داوود ملکی،**الهام مقتدایی خوراسگانی**

◄ **مطالعه هیستولوژیک و هیستوشیمیایی روده در همستر طلایی با تاکید بر سلول های جامی شکل.....۴۹**

فاطمه پورولی، سید مهدی بانان خجسته، طاهره محمودیان، مسعود دل آشوب

◄ **تاثیر لاکتوباسیلوس پلانتاروم و برویس جدا شده از دستگاه گوارش سیاه ماهی(*Capoeta.razii*) و تاثیر آن بر شاخص های رشد و ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مقایسه با پروبیوتیک پریمالاک.....۶۳**

میثم رامشگر، **محمد رضا قمی مرزدشتی**، مسعود هاشمی کروئی، مهدی حسینی فرد، سید رضا طبری پور

◄ **ردیابی مولکولی کروناویروس عامل بیماری برونشیت عفونی در مرغ های تخم گذار مبتلا به اویداکت کیستیک و سندرم کاهش کمی و کیفی تولید تخم.....۷۷**

مریم جلاهی، **مجید غلامی آهنگران**

◄ **تغییر حیات رده های سلولی سرطان پستان در مجاورت یک مهارکننده.....۹۱**

مزدک جمشیدی، **فاطمه کشاورزی**، صبریه امینی، علی قیصرزاده ، کامبیز داوری

فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۵۳، جلد ۱۴، شماره ۲، بهار ۱۴۰۰، صفحه ۱ تا ۲۳
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۹۸۸۰-۱۷۳۵

اثر افزودن سطوح مختلف عصاره رازیانه بر میزان باروری مگس سرکه و تاثیر آن بر تراکم پروبیوتیک های موجود در روده آن با تکنیک qReal-Time PCR

DOR: 20.1001.1.17359880.1400.14.2.1.0

ابوالحسن رضائی[۱]، مسعود قانع[۲]، شیدا اخشابی[۱]
۱- گروه ژنتیک، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران.**a.rezaei@toniau.ac.ir**
۲-گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران.

تاریخ دریافت:۹۹/۱۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: عصاره رازیانه در درمان بسیاری از ناهنجاری های تولید مثلی و ناباروری ها موثر می باشد هدف از تحقیق حاضر افزودن عصاره رازیانه به محیط کشت و بررسی میزان باروری مگس سرکه و تاثیر آن بر تراکم پروبیوتیک ها ی موجود در روده مگس سرکه از طریق تکنیک ریل تایم می باشد.

روش کار: در تحقیق حاضر از سه غلظت ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر و گروه فاقد عصاره رازیانه(کنترل) استفاده شد. پارامترهای زمان تاخیر در جفتگیری و طول مدت جفتگیری با کمک کرونومتر اندازه گیری و تعداد تخم ها و تعداد تخم های به دنیا آمده نیز با شمارش آن ها در روی محیط کشت به کمک لوپ صورت گرفت. مگس های سرکه طی دوماه مورد مطالعه قرار گرفتند. جهت بررسی میزان بیان ژن SrDNA۱۶ از qRT-PCR استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج تحقیق نشان داد زمانی که از غلظت۷۵ میکروگرم بر میلی لیتردر محیط کشت استفاده شد ، زمان تاخیر در جفتگیری کاهش معنی داری داشته است، هم چنین طول جفتگیری، تعداد تخم ریزی و تعداد تخم های به دنیا آمده به طور معنی داری بیشتر بوده است. نتایج PCR صحت وجود باکتری را تایید نمود و میزان بیان بالایی از ژن مورد مطالعه درباکتری ها مشاهده شد.

نتیجه¬گیری: با توجه به تحقیق حاضر عصاره گیاه رازیانه بر میزان بیان ژن در پروبیوتیک ها و هم چنین بر میزان باروری مگس ها موثر بوده است.

واژه‌های کلیدی: مگس سرکه ، گیاه رازیانه، پزوبیوتیک ها، بیان ژن.

مقدمه

گیاه رازیانه (FVE) *Foeniculum vulgare* یا Fennel یک گیاه شناخته شده داروئی منطقه مدیترانه است(۳۳). میوه FVE دارای سابقه طولانی در استفاده به عنوان غذا و دارو مصرف می باشد. به طور سنتی، اعتقاد بر این است که این گیاه به عنوان یک نیروی گرانشی(کمک به کنترل نفخ شکم) و افزایش تولید شیر مادر عمل می کند. محققین گزارش نموده اند که این گیاه هم چنین می تواند افزایش میل جنسی، تسریع تولد، تسکین علائم بالینی مردان، ترویج جریان قاعدگی و تسکین معده و سرفه موثر باشد. ترکیبات دانه رازیانه شامل ترانس آنتول، استراگوئل، فنچون و α-phellandrene بوده و غلظت نسبی این ترکیبات به طور قابل توجهی بسته به وضعیت فنولوژیکی و منشاء گیاه متفاوت است. رازیانه از دیرباز به عنوان یک عامل استروژنی با سمیت کم و عدم وجود سرطان زایی به معرفی شده است، بنابراین می توان آن را مجدداً به کاربرد پزشکی مدرن معرفی کرد. علاوه بر این خواص ضد التهابی، ضد دیابتی، ضد توموری و بسیاری از فعالیت های دیگر این گیاه در مطالعات مختلف نشان داده شده است(۱). این گیاه به عنوان یک عامل استروژنی با سمیت کم و عدم وجود سرطان زایی مستند است. مطالعه نشان داده که عصاره دانه رازیانه در غلظت

۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می تواند تعداد فولیکول های مختلف تخمدان را به طور چشمگیری افزایش دهد(۲۳، ۱۰). در سال های اخیر، استفاده از داروهای جایگزین، به ویژه داروهای گیاهی، به دلیل کمبود عوارض جانبی و کاهش هزینه ها به طور گسترده در درمان ناباروری مورد توجه قرار گرفته است(۱۸). روغن رازیانه حاوی ترکیبات مختلف مانند آنول یا دی متیلیدانتوئل است که ممکن است دارای فعالیت استروژنیک باشد. یکی دیگر از اجزای این روغن دانه، فلاونوئیدها است که یک نوع فیتواستروژن می باشد. بعضی از مطالعات عمل استروژنیک فیتواستروژن ها را در شرایط in vivo و in vitro نشان می دهد(۶). در مطالعه دیگری گزارش شده است که رازیانه می تواند شدت دیسمنوره را کاهش دهد و در مطالعه دیگری گزارش شده است که رازیانه اثری مشابه با مفنامیک اسید در کاهش درد دیسمنوره دارد (۳۳) . مطالعات نشان داده که عصاره رازیانه در غلظت های مختلف ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم سطح هورمون های استروژن و پروژسترون خون موش ها به میزان معنی داری افزایش می دهد. مگس سرکه امروزه کاربرد فراوانی در تحقیقات ژنتیک دارد. در خصوص مگس نر، غدد جنسی فعال یکی از عوامل مهم درمیزان باروری مگس نر می باشد. ساختار آن به صورت یک لایه سلولی که این غدد با تولید پروتئین ها(Accessory gland proteins(Acps)، کربوهیدرات ها و لیپیدها که در حین جفت گیری با مگس ماده همراه با اسپرم منتقل می شود(۲۷، ۲۱، ۲۰، ۱۶، ۱۱). حدود ۲۵ تا ۱۵۰ پروتئین مختلف در غدد جنسی مگس نر تولید می شود. سایز غدد، تعداد سلول ها و سایز سلول ها در میزان ترشح، کیفیت و کمیت ترشح پروتئین ها موثر است(۹). Bertram و همکاران سال ۱۹۹۳، پیشنهاد نمودند که تغییرات در Acp ها در میزان عملکرد تولیدمثلی مگس های نر موثر می باشد. علاوه بر آن Acp ها نقش به سزایی در عملکرد تولیدمثلی مگس ماده از نظر میزان تخمگذاری(Fecundity)، تعداد تخم‌های تبدیل شده به لارو(hatchability) و تعداد مگس های بالغ(offspring produced) دارند (۱۳). هم چنین Acp ها علتی برای افزایش تولید اسپرم، افزایش حرکت اسپرم ها(sperm motility) داشته اند(۱۶، ۱۴، ۱۳، ۳). پروبیوتیک ها امروزه کاربرد فراوانی در صنایع غذایی،دارویی و کشاورزی دارد. امروزه دانش پروبیوتیک افزایش یافته و در حال حاضر این میکروارگانیسم ها از طریق اصلاح میکرب های مضرروده، ترشح مواد ضد باکتریایی(باکتریسیت ها و اسیدهای آلی)، رقابت با پاتوژن ها برای جلوگیری از چسبیدن آن ها به روده، رقابت برای مواد مغذی لازم برای زنده ماندن پاتوژن و ایجاد یک اثر آنتی توکسین است. به نظر می رسد باکتری های پروبیوتیک به عنوان مکمل های غذایی مورد استفاده قرار می گیرند. اکثر پروبیوتیک ها به عنوان مکمل های زنده در رژیم غذایی عرضه می شوند که توانایی عبور از مسیر روده را دارد(۱۶). با توجه به این که یکی از روش های سنجش کمیت تراکم باکتری ها روش RT-PCR می باشد و تحقیق حاضر هدف بررسی کمیت پروبیوتیک ها با توجه به تغذیه مگس ها از عصاره رازیانه است. تحقیقات مختلفی در این خصوص صورت گرفته است. محققین روش های هیبریداسیون DNA و سطح آستانه کل DNA را جهت اندازه گیری کمی DNA ژنومی باکتری *E Coli* با روش RT-PCR مقایسه کردند که در آن حساسیت و دقت روش RT-PCR، ۳۰ برابر بالاتر از دو روش دیگر ذکر شد(۲۷، ۲۱، ۲۰، ۱۷). پروبیوتیک ها علاوه بر این که در تولید ویتامین های مختلف روده دخالت دارند در تولید پروتئین های مختلف نیز نقش موثری ایفا می کنند. تحقیقات مختلفی

آن را به اثبات رسانده است. پروتئین خام و محتوای چربی در تمام مواد غذایی مورد آزمایش با مقادیر توصیه شده(پروتئین خام ۳۰ و ۴۵٪ و چربی خام ۴ و ۸٪) بود. پیوستن زیست توده باکتریایی به پایه خوراکی احتمالاً سبب افزایش محتوای پروتئین همه پروبیوتیک های خوراکی(T1، T2، T3 و T4) نسبت به جیره غذایی تحت کنترل می باشد. نتایج یک تحقیق بر روی ماهی سالمون نشان داد که ماهی هایی که تحت تیمار جیره غذایی با پروبیوتیک ها بودند در مورد ماهی های ماده افزایش تخم ریزی و افزایش تعداد لاروهای بیرون آمده از تخم ها(Hatchability) مشاهده شد(۴). در خصوص ارتباط بین افزایش باروری مگس سرکه و مصرف رازیانه و نقش پروبیوتیک ها در آن تاکنون در مقالات مختلف گزارش نشده است. باکتری ها بخش عمده فلور روده را به خود اختصاص داده اند، به طوری که ۳۵ تا ۵۰ درصد قولون(روده بزرگ) از باکتری ها تشکیل یافته است.۶۰درصد توده مدفوع را باکتری ها تشکیل می دهند. چیزی حدود ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ گونه میکروارگانیسم مختلف در روده ها زیست می کنند. مخمرها نیز بخش کوچکی از این فلور را به خود اختصاص داده اند. ۴۰۰ تا ۸۰۰ گونه باکتری در روده ها به سر می برند(۱۷). امروزه پروبیوتیک ها باعث افزایش محافظت سیستم دستگاه گوارشی علیه میکرب‌های مضر هستند. در مورد دروزوفیلا نیز تاکنون به اثبات رسیده است که دارای یک سری باکتری های مفید در روده آن هاست که آن ها را در برابر آلودگی‌های قارچی و میکروبی محافظت می کند. ظاهراً این پروبیوتیک ها در محیط کشت دروزوفیلا نیز مشاهده شده است(۴). از دیرباز وجود پروبیوتیک ها در روده مگس سرکه به اثبات رسیده است(۲۱). معمولاً پروبیوتیک های موجود در روده مگس سرکه از جنس لاکتوباسیلوس(لاکتوباسیلوس پلانتاروم) هستند که آن‌ها را از آلودگی به بسیاری از میکروب ها و قارچ ها از جمله قارچ آسپرژیلوس ممانعت می کند(۲۷). در این ارتباط از بین گیاهان مختلف عصاره رازیانه در درمان بسیاری از ناهنجاری های تولید مثلی و ناباروری‌ها موثر می باشد(۴). این گیاه به دلیل وجود مواد تراتوژنیک به همراه عصاره محیط کشت مگس سرکه در افزایش باروری موثر خواهد بود. به طور کلی با فرض این که عصاره رازیانه به عنوان یک گیاه که در افزایش باروری موثر است چه مقدار می تواند در جمعیت میکروبی روده مگس سرکه تاثیرگذار باشد و در نهایت آیا می تواند باعث افزایش کیفیت محیط کشت و در نهایت بر باروری بیشتر مگس ها منجر گردد. روده حاوی انواع بسیاری از باکتری ها (مفید، مضر وخنثی) است که باید توازن باکتری های روده در بدن برقرار باشد در غیر این صورت علاوه بر مختل شدن وظایف فلور روده باعث آکنه، آلرژی غذایی، خستگی مفرط، افسردگی، سردرد و غیره می شود. البته لازم به ذکر است که در افراد سالم باکتری های مفید غالب هستند. درون دستگاه گوارش همه جانوران این فلور روده ای وجود دارد. جانورانی که کاملاً در شرایط بدون باکتری پرورش می یابند، بیش از جانوران عادی که فلور روده آن‌ها شکل گرفته است، آسیب پذیرتر هستند. ترکیب فلور روده هر جانور، ویژه ی همان جانور است(۵). Apidianakis و همکاران سال ۲۰۱۱ بر عملکردپروبیوتیک ها در دروزوفیلا بررسی انجام دادند، در این تحقیق باکتری‌های Klebsseila، Bacillus و مخمر Candida از روده دروزوفیلا استخراج شدند، این اجرام به محیط کشت اضافه شدند هم زمان از باکتری ایزوله شده نظیر *Bacillus subtilis* و *Bacillus cereus* که منبع رشد آن ها از بوقلمون و مرغ بودند استفاده شد. این باکتری‌ها گزارش شده بودند که به عنوان پروبیوتیک

در کاهش جمعیت آسپرژیلوس و سایر عفونت های گوارشی موثر است. به طور کلی هدف از این تحقیق تاثیر پروبیوتیک ها بر کیفیت محیط کشت که در این تحقیق مطالعه بر روی میزان باروری است می باشد(۵). Forester و همکاران سال ۲۰۱۱ و Fujiki وهمکاران سال ۲۰۱۵، نشان دادند که عصاره های به دست آمده از برگ های رازیانه قادر است فشارخون سرخرگی را بدون آن که بر تعداد ضربات قلب یا تنفس تأثیر داشته باشد، به طور چشمگیری کاهش دهد. ازطرفی مطالعات نشان داد که عصاره گیاه رازیانه ازطریق گیرنده های سروتوژنیک و مهار آنتاگونیست های هیستامینی منجر به کاهش فشارخون و جریان خون به داخل بیضه می شود. در تحقیقی هم تأثیر رازیانه بر کاهش خون مشخص شده است. احتمال دارد که عصاره رازیانه با مکانیسم فوق، باعث کاهش فشار خون و جریان خون به داخل بیضه و در نتیجه کاهش تستوسترون شود. یکی از متغیرهای دیگر در این تحقیق تاثیر عصاره رازیانه در باروری دروزوفیلا می باشد. عصاره بعضی از گیاهان خصوصاً رازیانه به عنوان یک آنتی اکسیدان فعال در دروزوفیلا عمل می نماید. علاوه بر آن این عصاره در جلوگیری از موتاسیون سلول ها و ایجاد سلول های غیر نرمال در دروزوفیلا ممانعت می کند(۱۹، ۸). در تحقیق حاضر اهداف مختلف از جمله

۱- بررسی جمعیت پروبیوتیک های محیط کشت مگس سرکه و افزایش باروری مگس ها زمانی که در محیط کشت مگس از غلظت های مختلف عصاره رازیانه استفاده شده است.
۲- تاثیر پروبیوتیک ها در افزایش عملکرد تولیدمثلی هنگامی که از عصاره رازیانه استفاده می شود، می باشد.
۳- بررسی تاثیر مصرف سطوح مختلف عصاره رازیانه بر میزان باروری مگس سرکه که در نهایت بر جمعیت پروبیوتیک های موجود در روده آن اثرگذاری نماید.

به طور کلی هدف اساسی از تحقیق حاضر افزایش میزان باروری مگس سرکه به کمک عصاره رازیانه موجود در محیط کشت و هدف فرعی وضعیت پروبیوتیک های موجود در محیط کشت و در واقع تغییراتی که در محیط کشت ایجاد می شود با تجزیه و تحلیل به کمک دستگاه های مرتبط است.

مواد و روش ها

عصاره گیری به روش ماسراسیون طبق تحقیقات گذشته انجام شد(در این روش ابتدا اندام هوایی گیاهان به صورت خشک توسط ترازوی دیجیتال به میزان پنجاه گرم توزین شدندو پس از پودر کردن آن ها درون ارلن قرار گرفته و روی هر نمونه ۱۰۰۰ سی سی از حلال(۵۰درصد اتانول ۹۶٪ و ۵۰درصد آب) ریخته تا کاملاً پودر را بپوشاند. بعد از پوشاندن سر ارلن ها با ورقه آلومینیومی به مدت ۴۸ ساعت بر روی دستگاه شیکر با نود دور در دقیقه قرار گرفتند. بعد از این که حلال و گیاه همگن شدند محلول ها توسط کاغذ صافی واتمن صاف و محلول روی بن ماری قرار داده شد تا حلال از عصاره خارج شود. پس از تبخیر حلال، عصاره خشک حاصل شد، که به ازای هر ۱۰۰ گرم رازیانه، ۱۴ گرم عصاره به دست آمد)(۲، ۱). مقادیر مورد نیاز از عصاره، به کمک ترازوی حساس ۰/۰۰۱ میلی گرمی توزین و در مقدار معینی از محیط کشت حل شد تا عصاره با غلظت مورد نیاز به دست آید

اضافه نمودن عصاره گیاه به محیط کشت مگس سرکه

در این ارتباط عصاره رازیانه با غلظت های ۲۵، ۵۰و ۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر(۲۵ میکروگرم عصاره پودر شده با ۱ سی سی آب) به محیط کشت مگس اضافه و

تاثیر آن در میزان باروری مگس سرکه مورد بررسی قرار گرفت(۲). با توجه به نسبت ۱۰۰ گرم گیاه رازیانه ۱۴ گرم عصاره خشک حاصل می شود، نسبت زیر در تحقیق حاضر استفاده شد. با توجه به نسبت ۱۰۰ گرم برای ۱۴گرم، ۱۷۹ گرم برای ۲۵ گرم عصاره خشک مورد نیاز است همین طور برای سایر غلظت ها رعایت شد(۲).

نمونه لازم شامل مگس های بالغ.

ابتدا مواد لازم برای تهیه محیط کشت شامل آرد گندم، ساکارز، مخمر ، عصاره رازیانه را با آب به مقدار معین حرارت داده سپس زمانی که دمای محیط کشت به زیر ۶۰ درجه رسید اسید پروپیونیک به محیط کشت اضافه میشود. در ارتباط با غلظت های مختلف عصاره رازیانه از غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به همراه گروه شاهد که فاقد عصاره گیاه رازیانه بود استفاده شد. ویال ها حاوی محیط کشت هر ۱۰ تا ۱۵ روز عوض شده و مگس ها به محیط کشت جدید پاساژ داده شدند.

بررسی میزان باروری مگس های بالغ ماده

در خصوص مگس های بالغ ماده، میزان تخم ریزی آن ها مورد بررسی قرار گرفت. در این ارتباط به کمک میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی ۱۰ میزان تخم های گذاشته شده در داخل ویال های آزمایشگاهی شمارش گردید. هم چنین تعداد مگس ها(نتاج) نیز با شمارش تعداد مگس های بیرون آمده از تخم به طور روزانه در ویال ها شمارش شدند. ب

بررسی محیط کشت مگس سرکه از نظر وجود و میزان فعالیت پروبیوتیک ها در آن به عنوان شاخص مورد بررسی در این مطالعه

در این ارتباط ترکیبات محیط کشت در حالت بدون استفاده از عصاره رازیانه و با استفاده از عصاره رازیانه تحقیق انجام شد. در هر دو مورد ذکر شده به کمک روش PCR وجود پروبیوتیک ها مورد بررسی قرار گرفتند.

انجام فرایند PCR :

با توجه به غلظت های استاندارد شده در مورد DNA الگو،(dNTP)، آغازگرها و Taq DNA Polymerase، واکنش زنجیره ای پلیمراز با دستگاه Eppendorf Gradient انجام شد، بهینه سازی شرایط PCR با انجام تغییرات در غلظت های DNA الگو، تغییر دادن دمای اتصال با انجام برنامه دمایی گرادیانت و هم چنین غلظت آغازگرها و تعداد چرخه های واکنش و زمان گسترش در واکنش PCR صورت گرفت(جداول ۱ و ۲).

طراحی پرایمر

طراحی پرایمر به منظورتهیه DNA و تعیین توالی ژن S rDNA۱۶ مربوط به باکتری *Lactobacillus brevis* صورت گرفت در ابتدا به وسیله برنامه کامپیوتری DNAMAN و با توجه به اطلاعات توالی مربوط به ژن مورد نظرکه در بانک جهانی ژن وجود داشت صورت گرفت. برای این کار جفت پرایمر زیرتقریباً از ابتدا تا انتهای ژن طراحی گردید و یک قطعه به طول ۳۰۰ جفت بازی تکثیر می گردد

بررسی محصول PCR

روشی که بررسی محصولات PCR را به طور کیفی یا کمی از نظر وجود یا عدم وجود و یا مقدار تولید محصول را با استفاده از آن مورد ارزیابی قرار می دهد الکترو فورز محصول PCR در ژل آگارز است. غلظت-های مختلفی از این ژل جهت بررسی DNA مورد نظر، استفاده می شود که این غلظت ها معمولاً بین ۰/۵ تا ۵ درصد می باشد. در اینجا از غلظت ۱ تا۱/۵ درصد استفاده گردید.

انجام RT-PCR

در این خصوص جهت بررسی بیان ژن srDNA۱۶ استخراج RNA از باکتری به منظور بررسی بیان ژن‌های srRNA۱۶ و GAPDH پس از تیمار با غلظت-

های مختلف رازیانه و کنترل صورت گرفت. استخراج RNA توسط دستورالعمل تهیه شده از شرکت کیاژن، آمریکا انجام گرفت. غلظت RNA مورد استفاده حدود ۱ تا ۲ میکروگرم در نظر گرفته شد. ساخت cDNA از روی RNA استخراج شده، پس از تعیین مقدار و غلظت RNA حاصل از سلول های باکتری توسط دستگاه نانودراپ، مطابق با کیت فرمنتاز TAKARA First Strand cDNA Synthesis Kit انجام گرفت. RT-PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل، ۱۰میکرولیتر Syber Green، پرایمر های پیشرو و معکوس(۱۰ پیکومولار) هر کدام به حجم ۰/۵ میکرولیتر و cDNA به حجم ۲ میکرولیتر که در نهایت با آب عاری از نوکلئاز به حجم مورد نظر رسانده شد. پرایمرهای لازم برای ژن های ساختمانی شامل:

GAPDH Forward
GGAAGGTGAAGGTCGGAGTCA
GAPDH Reverse
GTCATTGATGGCAACAATATCCAC

جدول ۱- ترکیبات PCR که به حجم ۲۵ میکرولیتر

حجم بافر (میکرولیتر)	نوع محلول
۳	نمونه DNA((100ng/µl))
۰/۵	پرایمر فوروارد(100pmol) AGAGTTTGATCMTGGCTCAG
۰/۵	پرایمرریورس (100pmol) GGTTACCTTGTTACGACTT
۱	مخلوط dNTP (2.5mM)
۲/۵	بافر 10X
۲	$MgCl_2$
۰/۵	آنزیم Taq (3U/ µl)
۱۵	آب دوبار تقطیر
حجم نهایی	۲۵ میکرولیتر

جدول۲- پروفایل دمائی و سیکل برنامه انجام PCR مربوط به ژن 16SrDNA

94°C	95°C	55/5°C	72°C	72°C
5 min	30 sec	40 sec	30sec	10 min
	40 cycles			

هم چنین در مطالعه فوق ازدستگاه ABI ساخت شرکت آمریکا استفاده و برنامه دمایی دستگاه در سه مرحله انجام شد. مرحله اول که منجر به دناتوره شدن DNA الگو و فعال شدن آنزیم پلیمراز می گردد، در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و به مدت یک دقیقه انجام گرفت. در مرحله دوم، واکنش تکثیری DNA در۴۰ سیکل و با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه و دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۵ ثانیه ادامه یافت. مرحله پایانی جهت ترسیم منحنی تفکیک یا منحنی ذوب به صورت۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه انجام شد. به منظور تأیید قطعه تکثیر شده و اطمینان از عدم وجود محصول غیر اختصاصی، آغازگر دایمر و آلودگی، منحنی تفکیک مورد بررسی قرار گرفت. پس از تکثیر، Ct نمونه ها شناسایی شده و بر اساس روش(RQ) Relative Quantification و فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ میزان بیان ژن srDNA۱۶ در مقایسه با ژن داخلی(GAPDH) به دست آمد. جهت انجام

واکنش Real Time PCR ابتدا پرایمرهای ژن srDNA۱۶ و GAPDH با استفاده از نرم افزار oligo نسخه ۷ و اطلاعات ژن در Bank Gene طراحی گردید. سپس جهت اطمینان پرایمرها در Blast،NCBI شد. نتایج با کمک نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ تجزیه و تحلیل و از روش های آماری تکمیلی مثل آزمون واریانس یک طرفه ANOVA استفاده شد. آزمون تعقیبی TUKEY در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. تفاوت ها در صورتی که$p\geq$ ۰/۰۵ باشد معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

جمع آوری و پرورش مگس های ماده

در تحقیق حاضر جهت بررسی تاثیر عصاره گیاه رازیانه در افزایش باروری مگس ها ، پرورش مگس سرکه در ویال های ۱۰ سی سی انجام شد. در این ارتباط مگس ها به دوگروه کنترل(بدون عصاره رازیانه)، محیط کشت حاوی عصاره رازیانه تقسیم بندی شدند. در این ارتباط میزان باروری مگس های ماده زمانی که در گروه کنترل و گروه تحت تیمار عصاره رازیانه بودند مورد ارزیابی قرار گرفتند. پارامترهای مورد ارزیابی شامل مدت زمان تاخیردرجفت گیری(Mating latency) ، طول زمان جفت گیری(Copulation duration)، تعداد تخم های گذاشته شده(Fecundity)و تعداد مگس های به دنیا آمده (Fertility)بودند. در نمودار ۱ نتایج نشان داد که مدت زمان تاخیر در جفت گیری، در تیمار دهی بعد از مصرف عصاره رازیانه و کنترل به ترتیب ۷۵، ۵۰ و ۲۵ میکرو گرم بر میلی لیتر که بعد از تیماردهی با رازیانه زمانی که از مقدار ۷۵ میکرو گرم بر میلی لیتر استفاده شد کمتر از گروه کنترل بوده است(۱۹/۱۹، ۱۸/۲۱، ۱۵/۳۲و ۱۳/۹۲ به ترتیب برای گروه کنترل، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر است). علاوه بر آن درخصوص طول مدت جفتگیری در مگس سرکه نیز نتایج نشان داد زمانی که از تیمار عصاره رازیانه با غلظت ۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر استفاده شد طول مدت جفت-گیری نیز بالا بود و (۲۵/۹۲، ۲۲/۳۲، ۲۲/۳۴، ۲۰/۲۱ دقیقه، به ترتیب برای بیشترین غلظت مصرف رازیانه تا گروه کنترل ،بودند)(نمودار ۲). هم چنین میزان تخم-ریزی نیز زمانی که از غلظت ۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر استفاده شد بالا بود(۳۹۹، ۳۶۳، ۳۴۵، ۳۳۴ به ترتیب در بالاترین مصرف عصاره تا گروه کنترل)(نمودار ۳). علاوه بر آن نتایج تعداد تخم های بیرون آمده نیز زمانی که از غلظت ۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر استفاده شد بیشتر از زمانی که از غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر و گروه کنترل استفاده شد بود بوده است(۱۷۴، ۱۸۳، ۱۹۸، ۲۲۴) (نمودار ۴).علاوه برآن با برنامه SPSS آنالیز One Way-ANOVA تمامی پارامترهای مربوط به باروری مورد بررسی قرار گرفت و تاثیر معنی دار را به جز در طول مدت جفت گیری بین مصرف بیشتر رازیانه(۷۵ میکروگرم برمیلی گرم) نسبت به گروه کنترل(گروه فاقد رازیانه) داشته است(نمودارهای ۱ تا ۴). با توجه به این که پارامترهای باروری در مگس سرکه ماده شامل تاخیر در جفت گیری، طول جفت گیری، میزان تخم ریزی، تعداد تخم های به دنیا آمده به طور روزانه شمارش می-گردید از روش رگرسیون استفاده شد. نتایج نشان داد که تاثیر غلظت عصاره رازیانه در تاخیر جفتگیری در مگس سرکه(سطح ۱(۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر)، سطح ۲(۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر)، ۳(۲۵ میکرو گرم بر میلی لیتر) و ۴(گروه کنترل). همان طور که در نمودار ۵ مشخص شده است. در غلظت ۷۵ میکروگرم تجمع نقاط بیشتر که نشان دهنده تاثیر غلظت بالا درکاهش تاخیر در جفت-گیری است. هم چنین در خصوص طول مدت جفت-گیری نیز با روش رگرسیون مورد بررسی و نتایج نشان داد که سطح ۱(۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر)، سطح ۲(۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) ، ۳(۲۵ میکرو گرم بر میلی لیتر)

و ۴(گروه کنترل) است. همان طور که مشخص شده است در غلظت ۷۵ میکروگرم تجمع نقاط بیشتر که نشان دهنده تاثیر غلظت بالا درافزایش طول جفت گیری است (نمودار ۶). درخصوص تعداد تخم ریزی نیز با روش رگرسیون مورد بررسی قرار گرفت(سطح ۱(۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر)، سطح ۲(۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) ، ۳(۲۵ میکرو گرم بر میلی لیتر) و ۴(گروه کنترل). همان طور که مشخص شده است، در غلظت ۷۵ میکروگرم تجمع نقاط بیشتر که نشان دهنده تاثیر غلظت بالا درافزایش طول جفت‌گیری است (نمودار ۷). نتایج تعداد تخم های به دنیا آمده نیز نشان دهنده تاثیر بالای غلظت عصاره رازیانه در میزان تخم های به دنیا آمده داشته است. در این ارتباط(سطح ۱(۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر)، سطح ۲(۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) ، ۳(۲۵ میکرو گرم بر میلی لیتر) و ۴(گروه کنترل) می باشد. همان طور که مشخص شده در غلظت ۷۵ میکروگرم تجمع نقاط بیشتر که نشان دهنده تاثیر غلظت بالا در درافزایش تخم های به دنیا آمده(هچ شده) است(نمودار۸). در جدول ۱ نتایج نشان داد که همبستگی بین میزان مصرف عصاره رازیانه و پارامترهای مرتبط با باروری در مگس سرکه ماده شامل مدت زمان تاخیر در جفت گیری، طول زمان جفت گیری، تعداد تخم های گذاشته شده و تعداد مگس های به دنیا آمده وجود دارد و اثرات معنی دار بودن در همبستگی بین پارامترها مشاهده شده است.

نتایج PCR

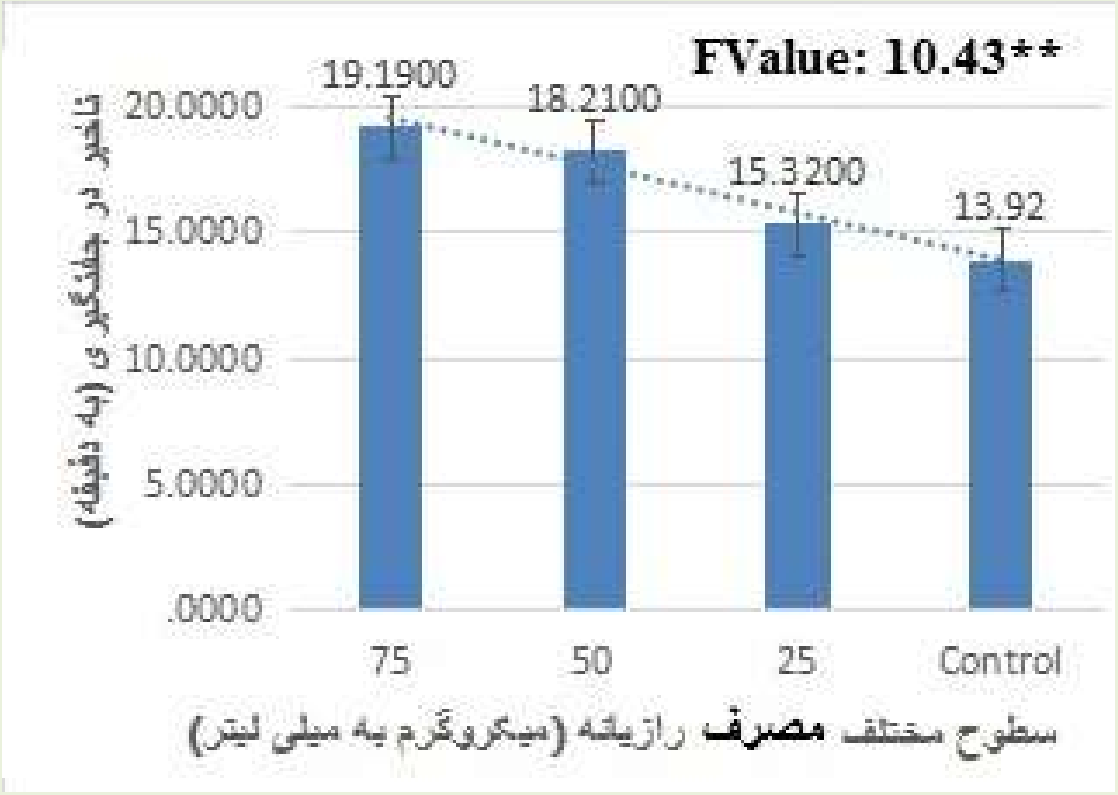
در تحقیق حاضر به منظور شناسایی باکتری های باسیلوس برویس موجود در محیط کشت مگس سرکه استخراج DNA انجام شد. PCR بر روی ژل آگارز ۱.۵ درصد ران شد(شکل ۱). همان طور که در شکل مشاهده می شود ۲۶ نمونه از محصولات PCR که جهت بهینه سازی از کیفیت های مختلف برخودار هستند، مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج آنالیز RT-PCR

در تحقیق حاضر به منظور بررسی میزان بیان ژن SrDNA۱۶ باکتری لاکتوباسیلوس برویس qRT-PCR انجام و در نمودار های ۹-۱۱ نتایج آنالیز نمودارهای حاصل از واکنش qRT-PCR نشان داده شده است. تعداد ۲۰ نمونه مورد بررسی قرار گرفت. میزان بیان ژن SrDNA۱۶ در جیره تحت کنترل به ترتیب کمتر از زمانی که از غلظت ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکرو گرم بر میلی گرم می باشد بود. که در زیر به صورت عددی مشخص گردیده است.

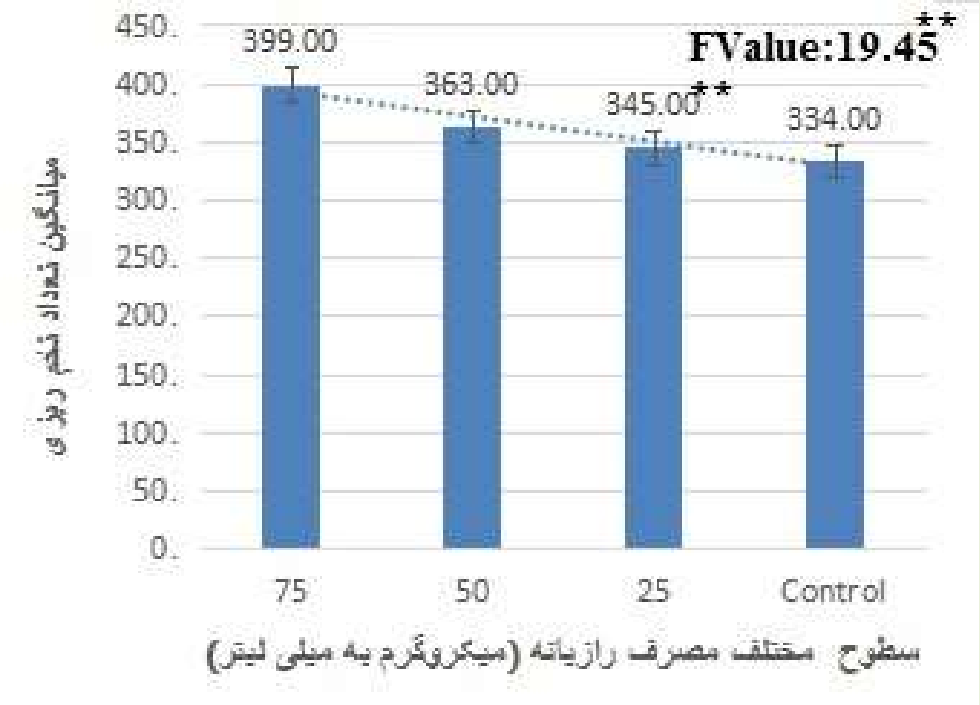
جدول ۱-همبستگی بین میزان مصرف عصاره رازیانه و پارامترهای مرتبط با باروری در مگس سرکه ماده شامل مدت زمان تاخیر در جفت گیری، طول زمان جفت گیری، تعداد تخم های گذاشته شده و تعداد مگس های به دنیا آمده.

Parameters	Ages	Mating latency	Copulation duration	Fecundity	Fertility
Fennel	1				
Mating latency	-.233**	1			
Copulation duration	.179*	.080	1		
Fecundity	-.632**	.140	-.092	1	
Fertility	-.547**	.290**	.007	.543**	1

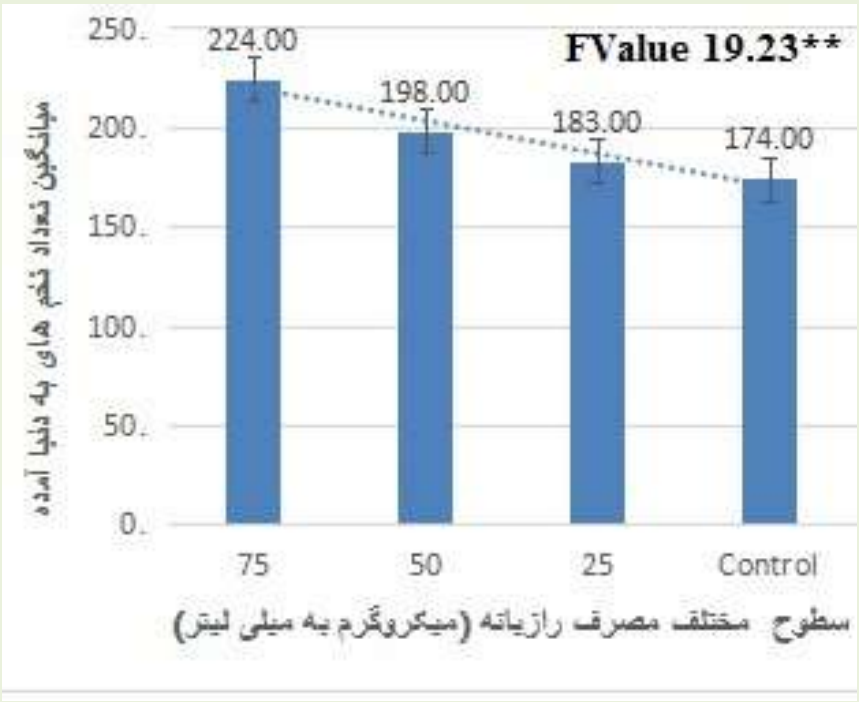


نمودار ۱- نتایج مصرف عصاره رازیانه در غلظت های مختلف ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر گروه کنترل . همان طور که در نمودار مشخص شده غلظت ۲۵ میکروگرم، میانگین تاخیر در جفت گیری بیشتر بوده است.

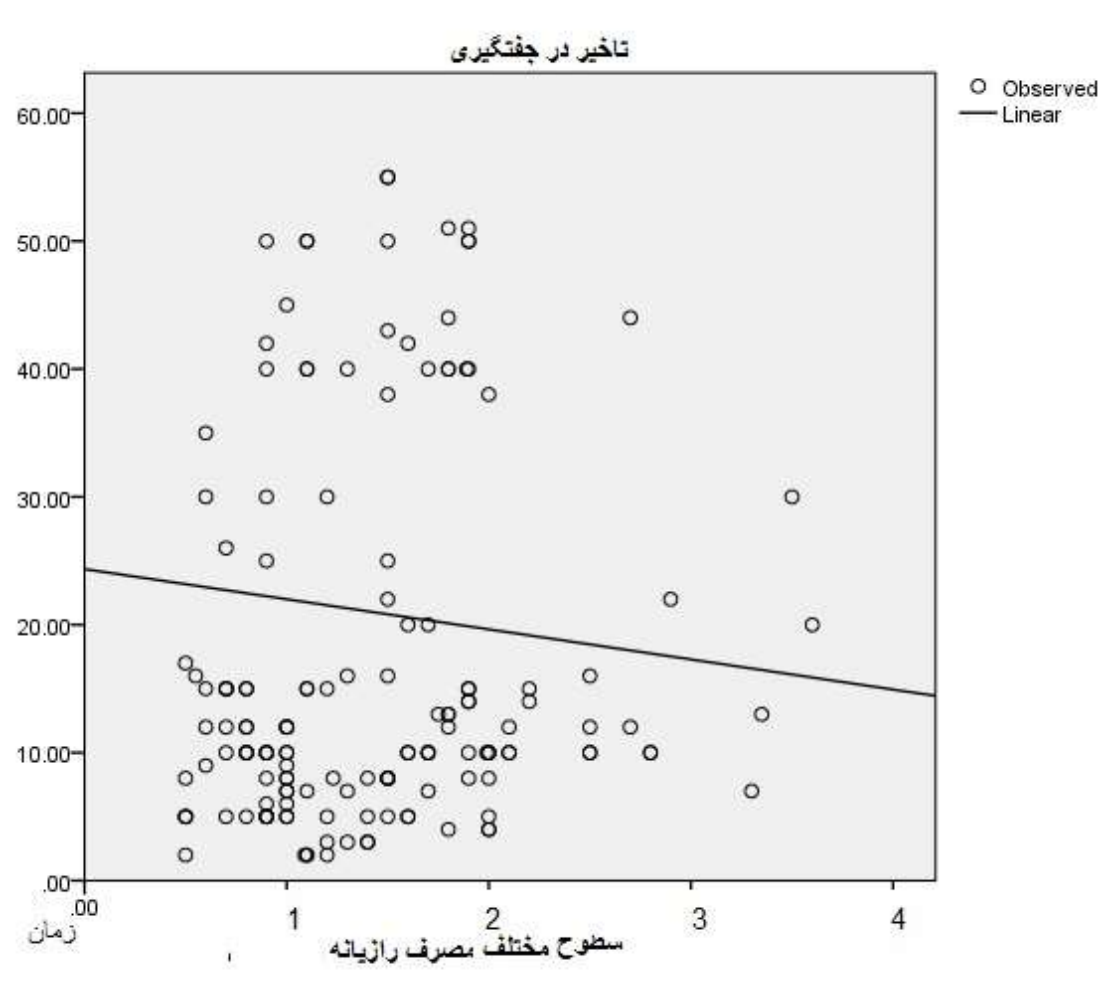
نمودار۲-نتایج مصرف عصاره رازیانه در غلظت های مختلف ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر و گروه کنترل. همان طور که در نمودار مشخص شده غلظت ۷۵ میکروگرم، طول جفتگیری بیشتر بوده است.



نمودار ۳-نتایج مصرف عصاره رازیانه در غلظت های مختلف ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر و گروه کنترل.
همان طور که در نمودار مشخص شده غلظت ۷۵ میکروگرم، تعداد تخم های بیشتری گذاشته شده است.

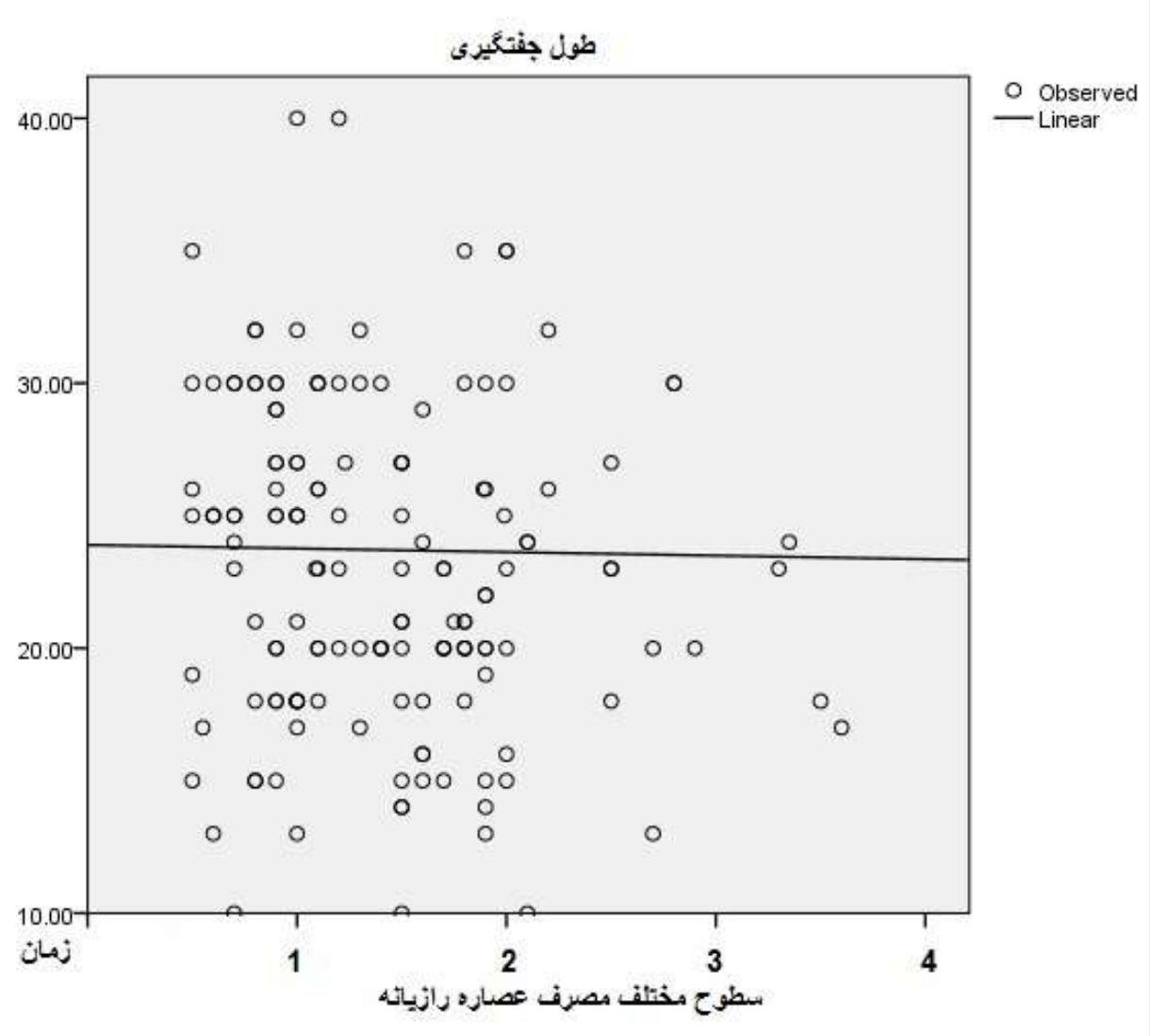


نمودار٤- نتایج مصرف عصاره رازیانه در غلظت های مختلف ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر و گروه کنترل.
همان طور که در نمودار مشخص شده غلظت ۷۵ میکروگرم تعداد تخم های هچ شده بیشتر بوده است.



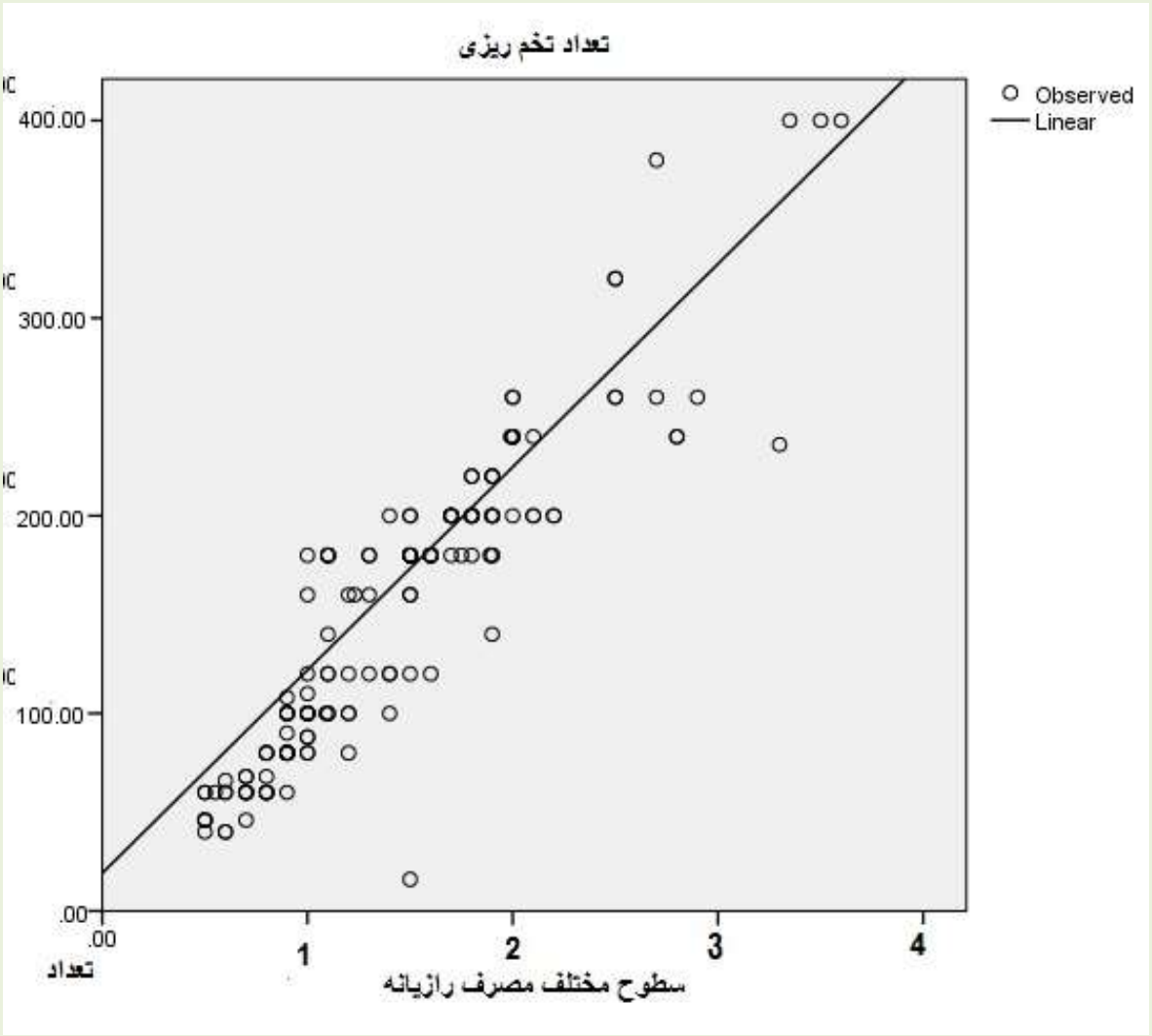
نمودار۵- آنالیز رگرسیون خطی تاثیر غلظت عصاره رازیانه در تاخیر جفتگیری در مگس سرکه (سطح ۱(۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر)، سطح ۲(۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) ، ۳(۲۵ میکرو گرم بر میلی لیتر) و ٤(گروه کنترل).

همان طور که در نمودار مشخص شده است. در غلظت ۷۵ میکروگرم تجمع نقاط بیشتر که نشان دهنده تاثیر غلظت بالا درکاهش تاخیر در جفت گیری است.



نمودار٦- آنالیز رگرسیون خطی تاثیر غلظت عصاره رازیانه در طول جفتگیری در مگس سرکه (سطح ١(٧٥ میکروگرم بر میلی لیتر)، سطح ٢(٥٠ میکروگرم بر میلی لیتر) ، ٣(٢٥ میکرو گرم بر میلی لیتر) و ٤(گروه کنترل).

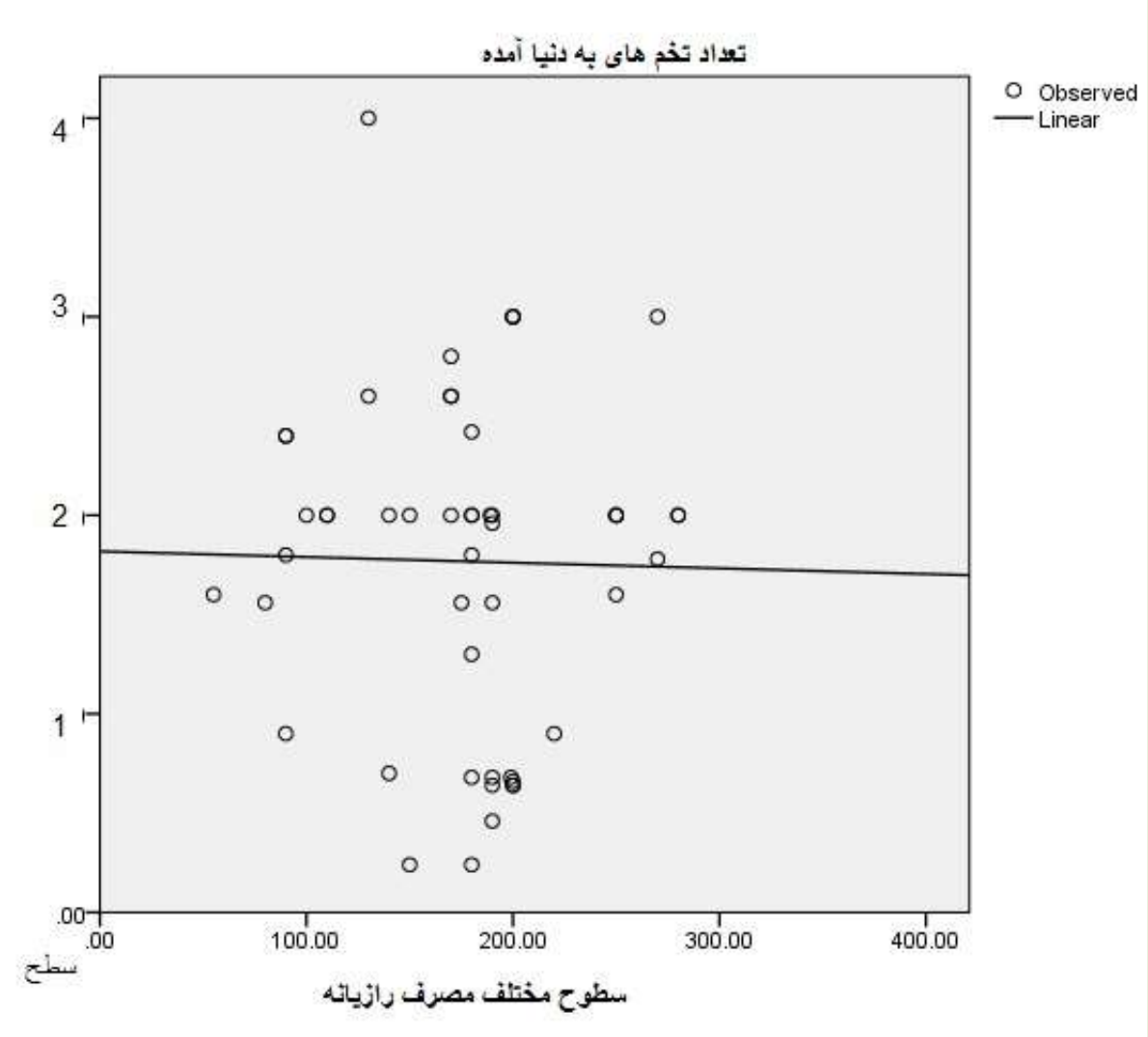
همان طور که در تصویر مشخص شده است. در غلظت ٧٥ میکروگرم تجمع نقاط بیشتر که نشان دهنده تاثیر غلظت بالا درافزایش طول جفت گیری است.



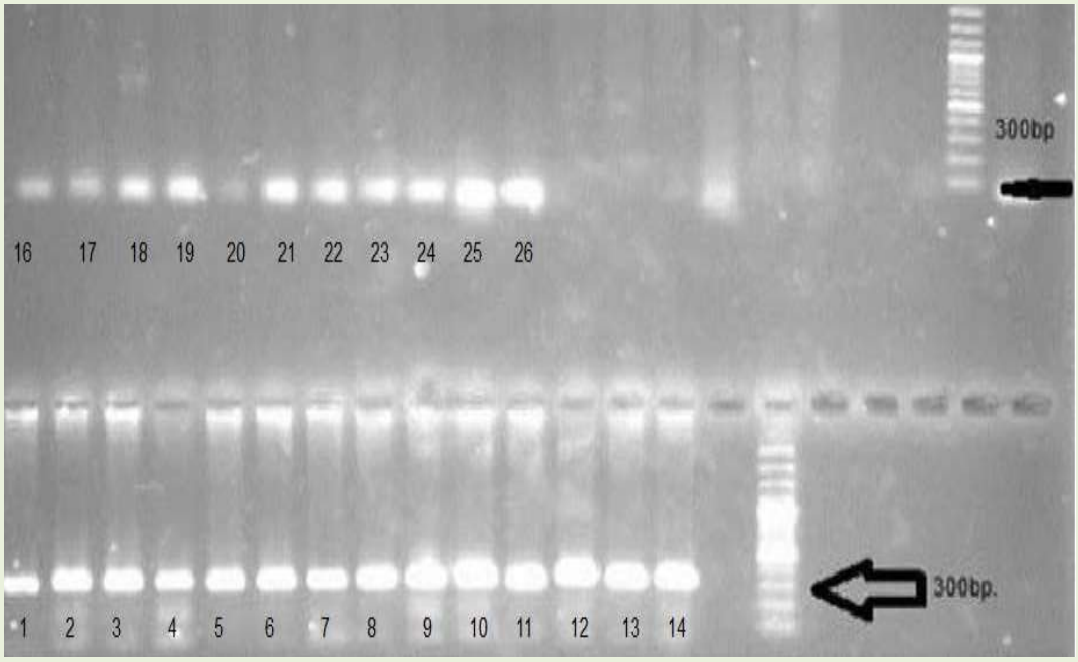
نمودار۷- آنالیز رگرسیون خطی تاثیر غلظت عصاره رازیانه در طول جفتگیری در مگس سرکه

(سطح ۱(۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر)، سطح ۲(۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) ، ۳(۲۵ میکرو گرم بر میلی لیتر) و ٤(گروه کنترل).

همان طور که در تصویر مشخص شده است. در غلظت ۷۵ میکروگرم تجمع نقاط بیشتر که نشان دهنده تاثیر غلظت بالا درافزایش طول جفت گیری است.



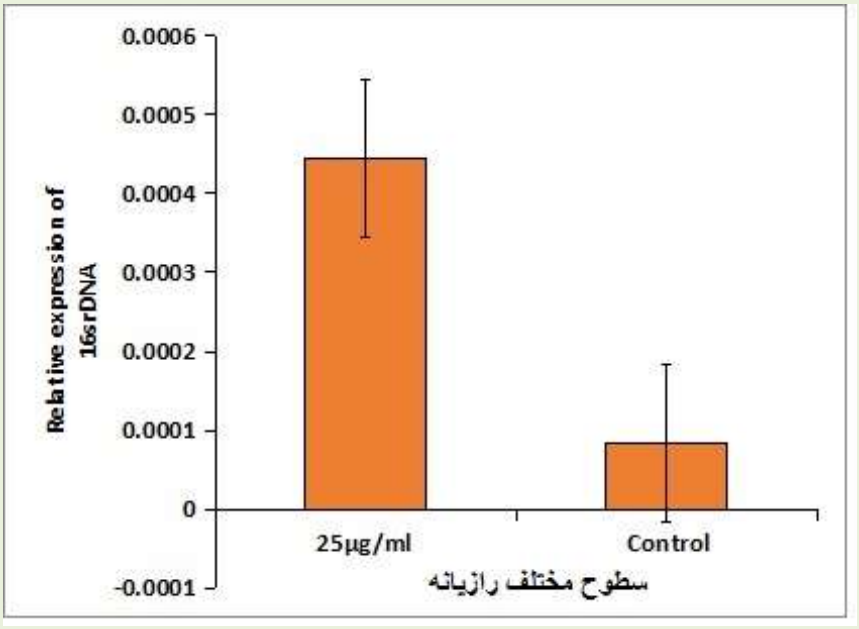
نمودار۸-آنالیز رگرسیون خطی تاثیر غلظت عصاره رازیانه درافزایش تخم های به دنیا آمده(هچ شده)در مگس سرکه (سطح ۱(۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر)، سطح ۲(۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) ، ۳(۲۵ میکرو گرم بر میلی لیتر) و ٤(گروه کنترل).
همان طور که در تصویر مشخص شده است. در غلظت ۷۵ میکروگرم تجمع نقاط بیشتر که نشان دهنده تاثیر غلظت بالا در درافزایش تخم های به دنیا آمده(هچ شده) است.



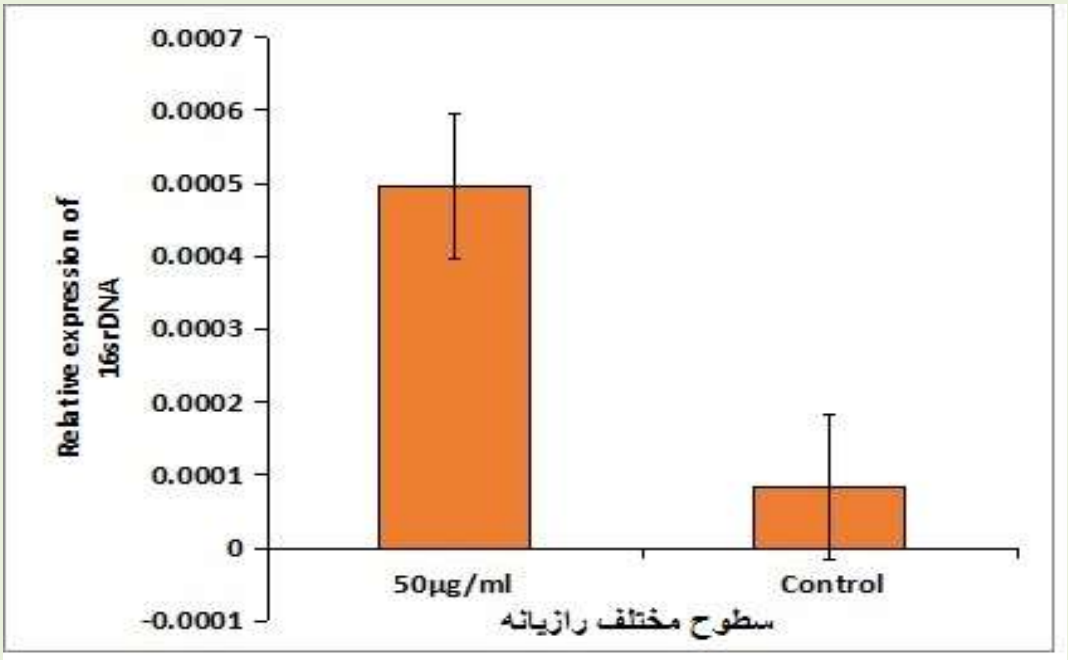
شکل۱-نتایج محصول PCR مربوط به ژن 16SrDNA باکتری باسیلوس برویس.

همان طور که در شکل مشاهده می شود ۲۶ نمونه از محصولات PCR که جهت بهینه سازی از کیفیت های مختلف برخوردار هستند، مورد بررسی قرار گرفتند. سایز خط کش ژنی ۳۰۰ جفت بازی می باشد.

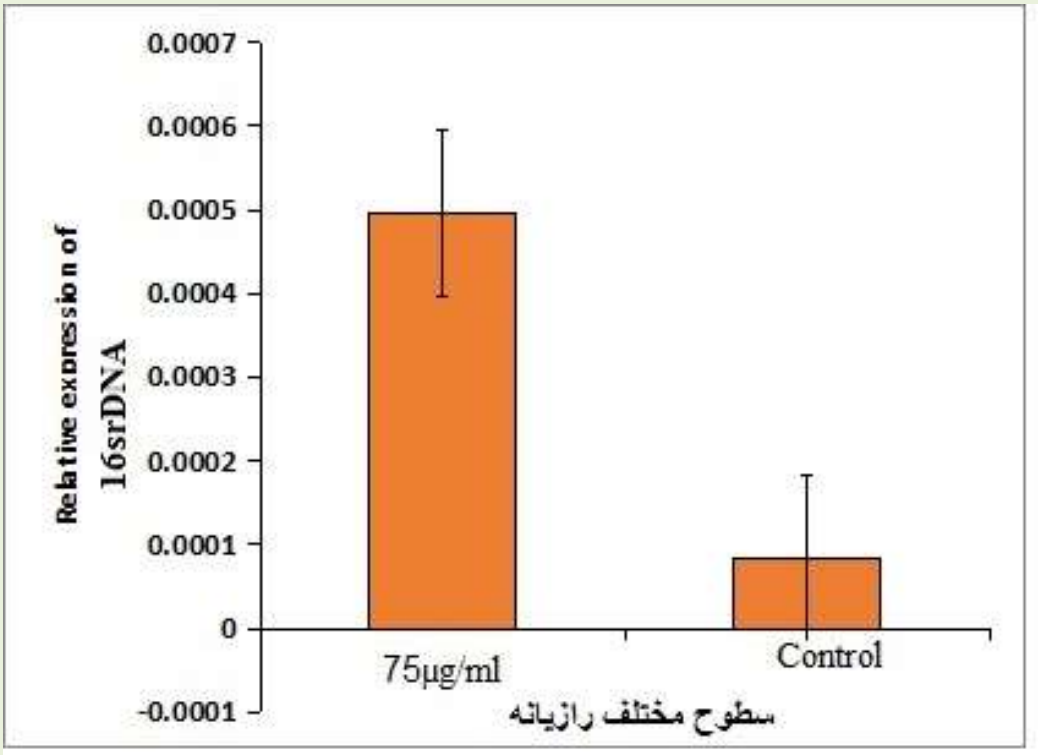
25µg/ml= 0.000445>0.0000826
50µg/ml= 0.000474>0.0000826
75µg/ml= 0.000499>0.0000826



شکل ۹- بررسی تاثیر مصرف عصاره رازیانه (۲۵میکروگرم بر میلی لیتر) بر میزان بیان ژن 16srDNA باکتری لاکتوباسیلوس برویس نسبت به گروه کنترل بیشتر می باشد.



شکل ۱۰- بررسی تاثیر مصرف عصاره رازیانه (۵۰میکروگرم بر میلی لیتر) بر میزان بیان ژن 16srDNA باکتری لاکتوباسیلوس برویس نسبت به گروه کنترل بیشتر می باشد.



شکل ۱۱- بررسی تاثیر مصرف عصاره رازیانه (۷۵میکروگرم بر میلی لیتر) بر میزان بیان ژن 16srDNA باکتری لاکتوباسیلوس برویس نسبت به گروه کنترل بیشتر می باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

پروبیوتیک‌ها باکتری‌های خوب دستگاه گوارش به ویژه معده و روده هستند، این باکتری‌ها در حین فرآیند هضم زنده می‌مانند، برای سلامتی بسیار مفید هستند و با تقویت سیستم ایمنی بدن، جذب مواد مغذی و حفاظت در برابر اختلالات گوارشی، از امراضی مانند سندرم روده تحریک‌پذیر جلوگیری می‌کنند. در حیوانات نیز وجود پروبیوتیک ها در دستگاه گوارش بسیار پراهمیت است. وجود پروبیوتیک ها در دستگاه گوارش حیوانات باعث افزایش رشد جوجه های گوشتی، افزایش تولید تخم مرغ و در دام ها باعث افزایش تولید گوشت و شیر می شوند. در حشرات نیز وجود پروبیوتیک ها در روده گوارشی آن ها و تاثیر در افزایش باروری آن ها به اثبات رسیده است. در تحقیق حاضر هدف بررسی تاثیر عصاره رازیانه در افزایش عملکرد پروبیوتیک ها در روده گوارشی مگس سرکه می باشد. پروبیوتیک ها در حشرات کاربرد فراوانی دارد. به عنوان مثال در زنبورعسل پروبیوتیک ها باعث تنظیم pH عسل و خاصیت ضد باکتری به دلیل پائین آمدن pH عسل در اثر وجود باکتری های لاکتوباسیل دارد. طی تحقیقی که توسط تاج آبادی و همکاران در سال ۲۰۱۱ نتایج حاصل از مطالعه آن ها نشان داد لاکتوباسیلوس های جدید در دستگاه گوارش زنبور های عسل در استان مرکزی با فلوتایپ جدید و نزدیک به لاکتوباسیلوس فارسیمینس در گروهی از جنس لاکتوباسیل ها قرار گرفت که این تفاوت با بررسی srDNA۱۶ مورد مطالعه قرار گرفت و تاثیر آن در بالابردن کیفیت عسل و کاهش مرگ و میر زنبور عسل تاثیرگذار بوده است(۳۶). در ایران تحقیقات تاکنون درخصوص تاثیر پروبیوتیک ها در مگس سرکه انجام نشده است و تحقیق حاضر می تواند اطلاعات مفیدی برای محققین کشورمان به دنبال داشته باشد. بنابراین در تحقیق حاضر با هدف نقش رازیانه و وجود پروبیوتیک ها در افزایش باروری مگس ها مورد مطالعه قرار گرفته است. در این ارتباط مگس ها تحت تیمارهای مختلف رازیانه در محیط کشت قرار گرفته و با گروه کنترل مورد مقایسه قرار گرفتند. با توجه به این که معیار افزایش باروری در مگس های ماده تاخیر در جفت گیری، طول مدت جفت گیری، افزایش تخم ریزی و تعداد مگس های به دنیا آمده بودند مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی پارامترهای مورد بررسی زمانی که از غلظت های مختلف رازیانه استفاده شد، بیشتر از گروه کنترل بودند. در خصوص تاخیر در جفت گیری یعنی مدت زمان لازم جهت نزدیکی مگس نر به ماده که هر چه قدر زمان کمتر باشد به طبع قدرت جنسی مگس نر نیز بالاتر می باشد و همین طور در مورد ماده نیز تمایل نزدیک شدن به مگس نر نیز بیشتر و زمان کمتری طول می‌کشد که در مورد تحقیق حاضر با توجه به غلظت بالای عصاره رازیانه میران تمایل مگس ماده نیز بیشتر بوده است(غلظت ۷۵ میکروگرم). در مورد طول مدت جفتگیری نیز معمولاً هرچه قدر طول جفتگیری در مگس نر بیشتر و همین طور مدت زمان تمایل جفتگیری در مگس ماده بیشتر باشد به معنی آن است که قدرت باروری مگس ها بالاتر است که این پارامتر در مورد غلظت بالا(۷۵ میکروگرم) نسبت به گروه کنترل بیشتر بوده است. به طور کلی کاهش زمان تاخیر در جفت‌گیری و طول مدت زمان جفت گیری از جمله پارامترهای مهم در بحث باروری مگس سرکه می باشد(۳۹). درخصوص میزان تخم ریزی نیز هر چه قدر تعداد تخم ها بیشتر باشد به طبع میزان باروری مگس ماده هم بالا بوده و در مورد مگس نر نیز همین وضعیت صدق می کند زیرا در مگس های نر افزایش تولید اسپرم که در کیسه ذخیره اسپرم در مگس

ماده(Spermatechae) ذخیره می گردد و در افزایش تخم ریزی موثر است و در تحقیق حاضر غلظت بالا عصاره رازیانه(۷۵ میکروگرم) بیشترین تعداد تخم ها را در شمارش تخم بر روی محیط کشت داشته است. در مورد تعداد تخم های بازشده نیز غلظت بالا عصاره رازیانه نیز موثر بوده است. زیرا هر چه قدر باروی مگس‌های نر بالاتر باشد و جنین های سالم تری در تخم باشد به طبع تخم های بیشتری باز شده و لاروها به دنیا می آیند(۶). محققین مختلفی ارتباط بین تغییرات در سلول های غدد جنسی و مصرف غلظت های مختلف عصاره های گیاهی را مورد بررسی قرار دادند. در این ارتباط از عصاره چای سبز به دلیل داشتن پلی فنل باعث کاهش سایز سلول های غدد جنسی، کاهش تعداد سلول های غدد جنسی و هم چنین کاهش سایز غدد جنسی مگس نر شدند. علاوه بر آن سایز مگس های ماده نیز در مقایسه با گروه کنترل کوچک تر بودند. تعداد تخم های گذاشته شده، تعداد لاروهای تبدیل شده به مگس و تعداد مگس ها هم کمتر از گروه کنترل بودند(۷). در تحقیق حاضر از عصاره رازیانه استفاده شده است. گزارشات متعددی مبنی بر تاثیر عصاره رازیانه در افزایش باروری در حیوانات مختلف وجود دارد. رازیانه در طب سنتی به عنوان یک ادویه استفاده می شود. فعالیت های دیورتیک، ضد درد و ضد تب، هم چنین در فعالیت های آنتی اکسیدانی و میوه رنگ‌رزی یافت شده است(۱۲). از مهم ترین ترکیبات موجود در رازیانه فیتواستروژن که یک ماده بیولوژیکی فعال است و می تواند به مانند استروژن عمل کند. هم چنین میزان شیردهی در زنان را افزایش می دهد و علائم یائسگی را در زنان به تاخیر می اندازد(۲۵). علاوه بر آن نتایج تحقیق محققین نیز نشان داده است که عصاره رازیانه در کاهش عوارض سندرم پلی کیستیک و همچنین دیابت نوع دو دخالت دارد(۳۴، ۳۰، ۲۸، ۱۱). اکثر بیماران دیابتی دارای اختلالات کلیوی هستند(۱۱). مصرف استرادیول والرات باعث افزایش بیشتر در میزان چربی می شود که به آسیب های پیشرفته کلیه منجر می شود(۳۵). علاوه بر آن امروزه بسیاری از داروها برای درمان PCOS مورد استفاده قرار می‌گیرنداستفاده از داروهای گیاهی خصوصاً گیاه رازیانه می تواند موثر باشد. همان طور که قبلاً بدان اشاره شد استفاده از پروبیوتیک ها نیز نقش به سزایی در طبیعت دارد. وجود پروبیوتیک ها در روده مگس سرکه می تواند کمک به سزائی در افزایش باروری این مگس ها داشته باشد. در یک مطالعه، اثرات مستقیم و متقابل نسل جدید باکتری های روده بر روی جفت‌گیری و رفتار باروری *D. melanogaster* را نشان داده است. نتایج نشان می دهد که اثر مثبت LP بر موفقیت تولید مثل در مگس های نر در مقایسه با گروه کنترل بر وزن، تاثیر معنی داری نشان داد. این مطالعه برای اولین بار نشان داد که ترکیب باکتری های روده به موفقیت تولید مثل در *D. melanogaster* کمک می‌نماید. نتایج محققین با توجه به اثرات گسترده ای از میکروب بیوتین روده در طیفی از گونه های باکتری ها مشخص شده است(۳۸، ۳۲، ۳۱، ۱۵). و پیامدهای بالقوه باکتری های روده را در فرآیندهای تکاملی کلیدی مانند انتخاب جنسیت نشان می دهد. در تحقیق حاضر به منظور بررسی جمعیت پروبیوتیک ها در محیط کشت مگس سرکه که در اثر مصرف عصاره رازیانه تحت تاثیر قرار گرفته بودند، از تکنیک Real Time PCR استفاده گردید، نتایج تحقیق نشان داد زمانی که از عصاره حاوی رازیانه به جیره غذایی مگس ها اضافه شد اثر معنی داری در رشد پروبیوتیک ها در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید. در تحقیق حاضر هر چند که نتایج PCR موید وجود باکتری لاکتوباسیلوس میباشد ولی فراوانی باکتری لاکتوباسیلوس در مقایسه با

گروه کنترل با کمک RT-PCR مشخص می گردد(۲۷). تغذیه مستقیم باکتری های پروبیوتیک شامل تولید ویتامین، دسترسی به مواد معدنی و عناصر کمیاب و تولید آنزیم های مهم گوارشی می باشد. استفاده از پروبیوتیک ها برای افزایش پارامترهای زیستی رشد و بهبود توانایی مقاومت در برابر بیماری ها در انسان به خوبی شناخته شده است(۲۰، ۱۷). علاوه بر مباحثی که درخصوص پروبیوتیک ها شرح داده شد، تکنیک های شناسایی این باکتری ها و بررسی کمیت آن ها، تکنیک qRTPCR تکنیک بسیار حساس و دقیقی است. روش PCR روشی بسیار وقت گیر، پر هزینه و نسبتاً غیر حساس می باشند. لی و همکاران در سال ۲۰۱۰ روش‌های هیبریداسیون DNA وسطح آستانه DNA را جهت اندازه گیری کمی DNA مقایسه کردند که Real Time PCR برای روش ژنومی باکتری *E.coli* حساسیت و دقت روش ۳۰ برابر بالاتر از روش معمولی PCR دارد. در یک مطالعه از روش سریع، بسیار حساس و اختصاصی RT-PCR بر مبنای استفاده از رنگ سایبر گرین تشخیص آلودگی DNA ناشی از باکتری *E.Coli* به عنوان میزبان در اینتروفرون نوترکیب استفاده شد. این روش قادر است با حساسیتی مناسب، در زمانی اندک و براساس منحنی استاندارد را در محصولات داروئی نشان دهد. علاوه بر آن از ژن srDNA۱۶ به عنوان یک ژن مارکر در شناسایی باکتری *E.Coli* استفاده شده است. به طور کلی روش RT-PCR علاوه بر داشتن حساسیت و ویژگی بالا دارای کاربردی آسان، سرعت زیاد و قیمت تمام شده مناسبی نیز می باشد(۲۹). که در تحقیق حاضر از این روش جهت شناسایی کمیت پروبیوتیک ها استفاده شد.

نتیجه گیری کلی:

در تحقیق حاضر تاثیر عصاره گیاه رازیانه بر باروری مگس سرکه و نقش پروبیوتیک ها در آن مورد بررسی قرار گرفته است. در این ارتباط عصاره رازیانه به غلظت‌های مختلف تقسیم بندی شدند. غلظت ها شامل ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکرو گرم بر میلی لیتر به محیط کشت اضافه شد علاوه بر آن از نمونه کنترل جهت تایید نتایج استفاده شد(محیط کشت فاقد عصاره رازیانه). مگس‌های سرکه طی دوماه مورد مطالعه قرار گرفتند و نتایج موید تاثیر عصاره رازیانه در افزایش باروری آن‌ها داشتند. گزارشات متعددی مبنی بر تاثیر پروبیوتیک ها در افزایش باروری نیز وجود دارد. پروبیوتیک ها با فعالیت داخل روده گوارشی باعث تولید ویتامین ها و پروتئین های متعدد می شوند که جهت باروری در مگس ها و به طور کلی در ارگانیسم های مختلف نیازمند می باشد. با توجه به بررسی درمحیط کشت مگس سرکه، دو سویه از باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم و استوباکتر پوموروم تلقیح کردند. نتایج تحقیق نشان داد که میزان تخم ریزی ، طول دوره جفت‌گیری افزایش رفتارهای جنسی(Sexual behavior) و افزایش تعداد نتاج منجر گردید. در نتایج چندین پارامتر در نظر گرفته شد، این پارامترها شامل تاخیر در جفت گیری،طول مدت جفت گیری، تعداد تخم ریزی و تعداد مگس های به دنیا آمده مورد بررسی قرار داده شد. نتایج تحقیق نشان داد زمانی که از غلظت بیشتر عصاره رازیانه(۷۵میکرو گرم بر میلی لیتر) در محیط کشت استفاده شد، میزان باروری در مگس سرکه ماده بیشتر از غلظت کمتر و هم چنین گروه کنترل بودند. علاوه بر آن با انجام واکنش PCR و qRT-PCR وجود باکتری لاکتوباسیلوس تایید گردید. این باکتری به عنوان یک باکتری پروبیوتیک و مفید در روده مگس وجود دارد که حین تغذیه مگس از محیط کشت وارد محیط کشت شده و در حین تغییرات سیکل مگس(تبدیل تخم به لارو، شفیره و نهایتاً مگس بالغ، تبادل باکتریائی انجام می شود). با توجه به تحقیق حاضر

پیشـــنهاد می شـــود از عصـــاره ســـایر گیاهان که در بیماری‌های مختلف نظیر دیابت نوع دو، ســـندرم پلی کیســـتیک تخمدان و بســـیاری از ســـرطان ها به کار می‌روند با آزمایش بر روی مگس سـرکه وضـعیت تاثیر این عصـاره ها در مگس سـرکه و مقایسـه آن با گروه کنترل مورد بررســی و نتیجه گیری قرار گیرد. علاوه بر آن می‌توان با اســتخراج عصــاره محیط کشــت در طی مسـیر داروسـازی، داروئی با اثربخشـی بالاتر سـنتز و به بازار عرضه نمود

منابع

۱-طاهریان،ع.، دهقانیان، م. ۱۳۸۶. بررسی اثر عصاره آبی میوه گیاه رازیانه(*Foeniculum vulgare*) بر تعدیل درد نوروژنیک و درد التهابی در موش سوری درمدل ارزیابی درد فرمالین، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دوره دوازدهم،شماره ۲، صفحه ۳۵ -۲۸.

۲- نیتی، م. ۱۳۹۴. بررسی اثر ضد تریکومونایی عصاره های گیاهان ریواس و رازیانه بر روی تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی. مجلّه طب سنّتی اسلام و ایران، سال ششم، شماره سوم، ۱۳-۱۵.

3.Agrawal, N., Pallos, J., Slepko, N., Apostol, BL., Bodai, L. (2005). Identification of combinatorial drug regimens for treatment of Huntington's disease using Drosophila. Proc Natl Acad Sci USA; 102; 3777-3781.

4.Apun-Molina, JP., Miranda, AS., Gonzalez, AL., Martinez-Diaz, S.F., Rojas-Contreras, M. (2009). Effect of potential probiotic bacteria on growth and survival of tilapia *Oreochromis niloticus* L., cultured in the laboratory under high density and sub-optimum temperature. Aquaculture Research, 4; 887– 894

5.Apidianakis, Y., Rahme, LG. (2011). *Drosophila melanogaster* as a model for human intestinal infection and pathology. Dis Model Mech, 4; 21-30.

6.Aymerich, T., Holo H., Håvarstein LS., Hugas, M., Garriga, M., Nes, IF. (1996). Biochemical and genetic characterization of enterocin A form *Enterococcus faecium*, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins. Appl Environ Microb, 62; 1676-1682.

7.Apidianakis, Y., Que, YA., Xu, W., Tegos, GP., Zimniak, P., Hamblin, MR. (2012). Down-regulation of glutatione S-transferase α 4 (hGSTA4) in the muscle of thermally injured patients is indicative of susceptibility to bacterial infection. FASEB J, 26(2); 730–737.

8.Buchon, N., Broderick, NA., Chakrabarti, S., Lemaitre, B. (2009a). Invasive and indigenous microbiota impact intestinal stem cell activity through multiple pathways in Drosophila. Genes Dev, 23; 2333–2344.

9.Bangham, J., Chapman, T., Partridge, L. (2002). Effects of body size, accessory gland and testis size on pre- and postcopulatory success in *Drosophila melanogaster*. Anim. Behav, 64; 915–921.

10. Baird, DT., Collins, J., Egozcue, J., Evers, LH., Gianaroli, L., Leridon, H. (2005). Fertility and ageing. Hum Reprod Update, 11; 261-76.

11. Castro, AF., Coresh, J. (2009). CKD surveillance using laboratory data from the populationbased National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). Am. J. Kidney, 53; S46-55.

12. Choi, EM., Hwang, JK. (2004). Antiinflammatory analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*. Fitoterapia, 75; 557-565.

13. Chapman, TLF., Liddle, JM., Kalb, MF., Partridge, L. (1995). Cost of mating in *Drosophila melanogaster* females is mediated by male accessory gland products. Nature, 373; 241-244 .

14. Chapman, T., Davies, SJ. (2004). Functions and analysis of the seminal fluid proteins of male *Drosophila melanogaster* fruit flies. Peptides, 25; 1477-1490 .

15. Corby Harris, V., Pontaroli, AC., Shimkets, LJ., Bennetzen, JL., Habel, KE. (2007) Geographical distribution and diversity of bacteria associated with natural populations of *Drosophila melanogaster*. Applied and Environmental Microbiology,73; 3470-3479.

16. Coulthart, MB., Singh, RS. (1988). Low genie variation in male-reproductive tract proteins of *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. Mol Biol Evol., 5; 167-181.

17. Franklin, A., Acar, J., Anthony, F., Gupta, R., Nicholls, T., Tamura, Y. (2001). Antimicrobial resistance: harmonisation of national antimicrobial resistance monitoring and surveillance programmes in animals and in animal derived food. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties (Paris), 20; 859–870.

18. Fujiki, H., Sueoka, E., Watanabe, T., Suganuma, M. (2015). Primary cancer prevention by green tea, and tertiary cancer prevention by the combination of green tea catechins and anticancer compounds. Journal of Cancer Prevention, 20(1); 1–4.

19. Forester, S. C., Lambert, J. D. (2011). The role of antioxidant versus pro-oxidant effects of green tea polyphenols in cancer prevention. Molecular Nutrition and Food Research, 55(6); 844- 854.

20. Gildberg, A., Mikkelsen, H. (1998). Effect of supplementing the feed of Atlantic cod (*Gadus morhua*) fry with lactic acid bacteria and immunostimulating peptides during a challenge trial with *Vibrio anguillarum*. Aquaculture, 167; 103–113.

21. Gatesoupe, F.J. (1994). Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic Vibrio. Aquat. Living Resour, 7; 277–282.

22. Hedges, LM., JC., Brownlie SL.,'Neill, O., Johnson, KN. (2008). Wolbachia and Virus Protection in Insects. Science, 322; 702.

23. Healy, DL., Trounson, AO., Andersen, AN. (1994). Female infertility: causes and treatment. Lancet, 343; 1539-44 .

24. Ingman-Baker, J. Candido, E.P.M. (1980). Proteins of the *Drosophila melanogaster* male reproductive system: Two dimensional gel patterns of proteins synthesized in the XO, XY, and XYY testis and paragonial gland and evidence that the Y chromosome does not code for structural sperm proteins. Biochem. Genet, 18; 809-828 .

25. Khani, B., Mehrabian, F., Khalesi, E., Eshraghi, A. (2011). Effect of soy phytoestrogen on metabolic and hormonal disturbance of women with PCOS. J Res Med Sci, 16; 297- 230.

26. Khazaei, M., Montaseri, A., Khazaei, MR., Khanahmadi, M. (2011). Study of *Foeniculum vulgare* effect on folliculogenesis in female mice. Int J Fertil Steril., 5; 122-7 .

27. Kumazaki, T., Hamada, K., Mitsui, Y. (1994). Detection of mRNA expression in a single cell by direct RT-PCR. Biotechniques, 16; 1017–1019.

28. Lau, DC., Yan, H., Dhillon, B. (2006). Metabolic syndrome: a marker of patients at high cardiovascular risk. Can J Cardiol., 22; 85B-90B.

29. Lee, DH., Jeong, HS., Kim, TE., Oh, Sh., Kim, IS. (2008). Real-Time RT-PCR for validation of reovirus type 3 safety during the manufacture of mammalian cell culture-derived biopharmaceuticals. Korean. J. Microbiol., 44(2); 56-65

30. Mirzayi, F., Kazemi, N. (2008). Prevalence of polycystic ovary syndrome in women with type 2 diabetes in Kerman, Iran. Metab Syndr Relat Disord, 6; 215-217.

31. Ostad, SN., Soodi, M., Shariffzadeh, M., Khorshidi, N., Marzban, H. (2001).The effect of fennel essential oil on uterine contraction as a model for dysmenorrhea, pharmacology and toxicology study. J Ethnopharmacology,76; 299-304.

32. Panayidou, S., Ioannidou, E., Apidianakis, Y. (2014). Human pathogenic bacteria, fungi, and viruses in Drosophilae: Disease modeling, lessons, and shortcomings. Virulence, 5; 253-269.

33. Senatore, F., Oliviero, F., Scandolera, E., Taglialatela-Scafati, O., Roscigno, G., Zaccardelli, M. (2013) Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of anethole-rich oil from leaves of selected varieties of fennel [*Foeniculum vulgare* Mill. ssp. vulgare var. azoricum (Mill.) Thell]. Fitoterapia, 90; 214-9 .

34. Schmidt, T., Stumm-Zollinger, E., Chen, P.S. (1985). Protein metabolism of *Drosophila melanogaster* male accessory glands-III. Stimulation of protein synthesis following copulation. Insect Biochemistry,15;391–401 .

35. Stevenson, FT., Wheeldon, CM., Gades, MD., Kaysen, GA., Stern, JS., van Goor, H. (2000). Estrogen worsens incipient hypertriglyceridemic glomerular injury in the obese. Zucker rat. Kidney Int, 57; 1927- 1935.

36. Tajabadi, N., Mardan, M., Manap, M. Y. A., Shuhaimi, M., Meimandipour, A., Natheghi, L.

(2011). Detection and identification of *Lactobacillus bacteria* found in the honey stomach of the giant honeybee Apis dorsata. Apidologie, 42; 642.946

37. Whalen, M., Wilson, G.T. (1986). Variation and genomic localization of genes encoding *Drosophila melanogaster* accessory gland proteins separated by SDSPAGE. Genetics, 114; 77-92 .

38. Wolfner, MF. (1997). Tokens of love: functions and regulation of *Drosophila male* accessory gland products. Insect Biochem Mol Biol., 27;179–192.

39. Wolfner, M. F. (2002). The gifts that keep on giving: physiological functions and evolutionary dynamics of male seminal proteins in Drosophila. Heredity, 88; 85–93 .

The Effect of Adding Different Level of Fennel Extracted on the Fertility of *Drosophila melanogaster* and its Effect on the Density of Probiotics in its Intestine Using Qreal-Time PCR Technique

A.Rezaei[1], M.Ghane[2], Sh.Akhshabi[1]

1.Department of Biological Sciences, Faculty of Genetics, Islamic Azad University Tonekabon Branch, Iran

a.rezaei@tonekaboniau.ac.ir

2.Department of Biological Sciences, Faculty of Microbiology, Islamic Azad University Tonekabon Branch, Iran.

Received:2021.11. 2 **Accepted: 2021.19.4**

Abstract

Inroduction & Objective:The aim of this study, was additive extraxted fennel in the medium for increasing reproductive performance, concentration of probiotices by using qRT-PCR technique.

Materials and Methods: In the present study, fennel extracted was divided into different concentrations. Concentrations including 25, 50 and 75 µg /ml were added to the culture medium. In addition, a control sample was used to confirm the results. Parameters of mating latency and copulation duration, was measured by coronometr instrument. Fecundity and fertility also were count by Loop on the medium. The flies were studied for two months.

Results: In this study, concentration of 25,50,75 µg/ ml and control group was used. The results showed concentration of 75µg/ml was significant decreasing mating latency and increasing copulation duration, fecundity and fertility parameters were showed. Moreover were confirmed lactobacilus brevis by PCR technique In addition using qRT-PCR technique and confirmed higher expression in 16srDNA when used 75µg/ml concentration.

Conclusion: According to the present study, the higher fennel extracted has been effective on gene expression in probiotics and also on the reproductive performance of flies showed.

Key word: *Drosophila melanogaster*, Probiotics, Fennel extraction, Expression.