**الخلاصة :**

يعد مرض نيوكاسل ( ND ) من الامراض الفايروسية الشديدة العدوى , التي تصيب الطيور حيث يشكل تهديداَ مستمراَ لصناعة الدواجن في العالم على الرغم من استخدام المربين للقاحات خلال التربية , مما دعت الحاجة لايجاد مواد اخرى لها تأثير على نمو الفايروس وتطوره ومنها المستخلصات النباتية المائية لنباتي الزيتون والريحان .

تم تنمية العزلة الفايروسية العراقية ( محافظة النجف ) في البيض المخصب بعمر ( 11 – 9يوم ) عن طريق الحقن في كيس الالنتويس حيث كانت نتائج اختبار التلازن لسائل الالنتويس allantoic fluid) )( 512 HAU ) للتمرير الثالث . استخدمت الدراسة الخلايا الليفية لجنين البيض وخلايا الخط الزرعي Helaلقياس المعيار الحجمي للفايروس حيث كان ($2× 10^{8}TCID 50 /ml$ *) في خلايا جنين البيض بينما بلغ في خلايا*Hela*(*$2×10^{6.4}$ *) ,وتبين ان للفايروس القابلية على النمو في نوعي الخلايا لكنه بطيْ النمو في الخلايا الطبيعية لجنين البيض مما يؤدي الى رفع المعيار الحجمي له بينما كان سريعاَ في الخلايا السرطانية مما ادى الى الحصول على معيار حجمي اقل .*

اظهرت نتائج الاستخلاص ان نسبة المستخلص ( 15.33 % ) لأوراق الزيتون بينما كانت لأوراق الريحان ( 13.33 % ) في حين اظهرت نتائج التحليل الكيمياوي وجود مركبات الايض الثانوية التالية في المستخلص المائي : القلويدات , التالينات , الصابونيات , الفينولات , كلايكوسيدات والفلافينويدات , , استخدامت تخافيف ثنائيه لكلا المستخلصين (2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5)على الخلايا الليفية لجنين البيض وخلايا الخط الزرعي Hela , حيث اختير التركيزين( 1000,500 مايكروغرام / مل ) لمعرفة تأثيرها كمضاد للفايروس وذلك بقياس النسبه المئويه لقتل الخلاياgrowth inhibition % *من خلال تعريض الخلايا للفايروس ثم حضنها مع المستخلص لمدة* 72 *ساعة حيث كان لهما تأثير في تقليل نسبة قتل الفايروس للخلايا . ولمعرفة تأثير المستخلصين ( بتركيز* 1000 *مايكروغرام / مل ) والانترفيرون –بيتاوالذي استخدم لمقارنه تاثيره مع تاثير المستخلصات على التعبير الجيني لجينات معينة للفايروس وهي جين* F *(* Fusion gene*) و جين* M *(* Matrix gene*) , اجريت التجربية بتقسيم كل نوع من الخلايا الى خمسه مجاميع (مجموعة الفايروس + مستخلص الزيتون ,مجموعةالفايروس+ مستخلص الريحان, مجموعهالانترفيرون –بيتا + الفايروس ,مجموعه السيطرة الموجبة ومجموعه السيطره السالبة) , حيث عرضت الخلايا للمجاميع الاربعه الاولى الى الفايروس* ثم اضيف الى المجموعه الاولى مستخلص الزيتون والى المجموعه الثانيه مستخلص الريحانواضيف الانترفيرون- بيتا الى ا لخلايا في المجموعه الثالثه قبل 15ساعه من تعريض الخلايا للفايروسثم اضيف لها الوسط الزرعي المستدام (mentenant media) مع مجموعتي خلايا السيطره.

*وقد تم قياس التعبير الجيني للمجاميع الخمسهللاوقات (* 48 , 36 , 24 , 12*ساعة ) وقد اظهرت النتائج تأثر التعبير الجيني لجين* M*في جميع الاوقات في خلايا جنين البيض عند استخدام المستخلصات والانترفيرون بيتا مع الفايروس ,وقد اظهرت النتائج ان لمستخلص اوراق الريحان تأثير في نقصان مستوى التعبير الجيني (*0.68, 3.22, 8.22, 13.64 *)وهو اعلى من تاثير مستخلص اوراق الزيتون والذي كان (* 29.65 , 9.78 , 5.31 , 1.11*). مقارنه بمجموعه الفايروس والتي كان التعبير الجيني لها*12.55,36.25,7.62, 1.94)*) وقد كان استخدام الانترفيرون مؤثرا على جين M حيث كان (*1.43,7,11.39*) ولكنه انحفض الى*4.43 بعد48 ساعه *, اما بالنسبه* لجين F*فقد كانالتعبير الجيني له لمجموعه الفايروس (*1.69,11.71,39,67,30,26*) بينما كانالتعبير الجيني فيمجموعهمستخلص الزيتون (*1.77,7.83,32.18,28.84*) وللريحان (*1.70, 5.77, 18.37, 27.09*) مقارنه مع مجموعه الانترفيرون والتي اعطت تعبير جيني (*9.64. 1.15 *) للاوقات* 24,12*وهو اعلى من التعبير الجيني لمجموعتي المستخلصات , لكن العبير الجيني انخفظ بعد* 36,48*ساعهليصبحاقل من التعبير الجيني للمستخلصات .*

*اما في خلايا الخط الزرعي* Hela*فقد بينت نتائج فحص الـ* qRT – PCR *لمعرفة التعبير الجنيني لجين* M*ان مجموعة الفايروس( السيطرة الموجبة ) كان لها اعلى تعبير جيني عند مقارنتها مع باقي المجاميع*

*(* 8.0 , 12.72 , 36.75 18.76*) بينما اثر استخدام المستخلصات بصورة معنوية على التعبير الجيني للفايروس , وكان لمستخلص اوراق الريحان تأثير اعلى من مستخلص اوراق الزيتون .*

*اما اضافة الانترفيرون فقد تفوقت معنوياَ (* P< 0.05*) من حيث الانخفاض في التعبير الجيني لجين*M *بعد (*  24 , 12*ساعة ) من التعريض بينما ارتفع التعبير الجيني بعد(* 36*ساعة ) ثم عاد وانخفض بعد (* 48*) وكذلك المجاميع الثلاثة الاخرى المعرضة والتي انخفضت جعيعا في هذا الوقت .*

*تضمنت الدراسة ايضاً قياس مستوى الانترفيرون – بيتا في الوسط الزرعي للخلايا المعرضة وذلك بجمع الوسط الزرعي وتجميده بدرجة* - 80 م لحين اجراء الفحص في جميع اوقات الدراسة ولنفس المجاميع السابقة ففي خلايا جنين البيض اظهرت النتائج ان تركيز الانترفيرون – بيتا لمجموعة الفايروس كانت الاعلى في جميع اوقات التجربة حيث ارتفعت في الاوقات الثلاثة الاولى ثم انخفضت في نهاية التجربة اما مجموعة الانترفيرون فقد امتلكت تراكيز مقاربة لها ولكن كان انخفاضها اكبر في نهاية التجربة ( 48 ساعة ).

في حين كان لمجموعة مستخلص الريحان اوطئ التراكيز مقارنة بمستخلص اوراق الزيتون الذي كان اعلى , وكان الفرق معنوي بين المجاميع الاربعة ( P< 0.05 ) .

 اما الخلايا السرطانية Hela فقد تم ايضاً قياس تركيز الانترفيرون – بيتا فيها ولنفس المجاميع حيث تميزت مجموعة مستخلص الريحان بأن لها اعلى تركيز للانترفيرون – بيتا في بداية التجربة ثم بدات بالانخفاض لتصل الى ادنى تركيز بين مجاميع التجربه بعد ( 48 ساعة ) . ان اضافة الانترفيرون – بيتا ادى الى رفع تركيز الانترفيرون – بيتا في هذه المجموعة بصورة معنوية ( P< 0.05 ) مقارنة بباقي المجاميع في حين كان الفرق غير معنوي بين مجاميع التجربة بعد ( 48 ساعة ) من التعريض للفايروس .

تبين من النتائج ان تحفيز انتاج الانترفيرون بيتا في خلايا جنين البيض الطبيعيه كان اعلى من تراكيز الانترفيرون في الخلايا السرطانية Hela حيث كان الفرق معنوي ( P< 0.05 ) بينها

اما نتائج تأثير استخدام المستخلصين مع الفايروس داخل الجسم الحي ( in – vivo ) بعد ان تم تربية الدجاج من عمر 25 – 1 يوم ولم يتم تلقيحها باي لقاح , وقد قسمت الى اربعة مجاميع كل مجموعة ( 8 طيور ) حيث في المجموعة الاولى اصيبت الحيوانات بالفايروس ( العترة المحلية ) عن طريق التقطير بالعين والانف بينما المجموعة الثانية اصيبت بالفايروس مع استخدام مستخلص اوراق الزيتون في ماء الشرب قبل ثلاثة ايام من بدأ التجربة وحتى نهايتها بنسبة 2 غم / كغم , اما المجموعة الثالثة فقد اصيبت بالفايروس مع استخدام مستخلص اوراق الريحان لها في ماء الشرب قبل ثلاثة ايام من اصابتها والى نهاية التجربة وبقيت المجموعة الرابعة كمجموعة سيطرة لم يتم تعريضها لا للفايروس ولا وضع لها المستخلص في الماء الشرب , عزلت المجاميع عن بعض خلال التجربة .

كانت نسبة الهلاكات في المجموعة الاولى 100 % بينما بلغت 75 % في مجموعتي المستخلصين وكانت 0 % لمجموعة السيطرة .

لوحظ فرق في شدة الاعراض وطول فترة الاصابة بين مجموعة السيطرة الموجبة ومجاميع المستخلصات . تم اخذ القصبة الهوائية للطيور بأوقات ( 48 , 24 ساعة ) لأجراء فحص qRT – PCR لها لجيني الفايروس M , F وجين الانترفيرون – بيتا , أوضحت النتائج ان التعبير الجيني للجين Mفي مجموعتي المستخلصين كان اوطئ معنوياً من التعبير الجيني لمجموعة السيطرة الموجبة في ( 48 , 24 ساعة ) حيث كان للمستخلصات تأثير معنوي في خفض التعبير الجيني وكذلك الحال في جين F . بينما لم يكن الفرق معنوي بين المجاميع الثلاثة للتجربة بعد 24 ساعة من الاصابة في التعبير الجنيني للأنترفيرون – بيتا , ولكنه عاد وارتفع لمجموعة الفايروس واصبح الفرق معنوياً بينها وبين بقية المجاميع .