# بررسی اثر جلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) بر تغییرات شاخص های ایمنی (کمپلمان و پراکسیداز) در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss* )

پریسا امانی نژاد [۱*]، حسین عمادی [۲]، مژگان امتیاز جو [۳] و همایون حسین زاده صحافی [٤]

۱،۲،۳و۴) دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم وفنون دریایی، واحد تهران شمال

* نویسنده مسئول مکاتبات parisaananinejad@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۲/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰٤/۳۰

## چکیده

**این مطالعه به بررسی، اثر جلبک دونالی یلا بر تغییرات فعالیت اجزای C۳ و C٤ کمپلمان و پراکسیداز در ماهی قزل آلای رنگین کمان مورد مطالعه قرار گرفته است. شاخص های مورد استفاده،تعیین میزان کمپلمان های C۳ و C٤ و پراکسیداز وبررسی تغییرات در شاخص های ایمنی بوده است. ماهی ها در ۵ تیمار با تراکم جلبک دونالی یلا خالص به مقادیر صفر (شاهد)، ۵، ۷، ۹ و ۱۱ گرم در کیلوگرم غذا به مدت ۳ ماه تغذیه شدند و در دو مرحله، یکی در ابتدای ماه اول (شاهد ۱) و دیگری پس از اتمام ماه سوم پرورش (شاهد۲)، به طور تصادفی (به تعداد ۲۵ عدد) از آن ها نمونه برداری برای گرفتن خون صورت گرفت و برای سنجش کمپلمان و پراکسیداز به آزمایشگاه فرستاده شدند. نتایج آزمایش نشان دادند، که میزان C۳ و C٤ و پراکسیداز با افزایش مقدار جلبک دونالی یلا و زیاد شدن وزن افزایش یافتند، به طوری که افزایش وزن نهایی در تیمار ٤ به طورمعنی داری بیشتر از سایر تیمار ها بود و بیشترین میزان افزایش طول در تیمار ٤ مشاهده گردید، که با تیمار ۱ دارای اختلاف آماری معنی داری بود ( $p < 0/05$ ). توجه به نتایج حاضر نشان می دهد که روند تغییرات ایمونولوژیک در ماهی قزل آلای رنگین کمان در نتیجه تغذیه با جلبک دونالی یلا رو به افزایش است. افزایش این شاخص ها نشان دهنده این امر است که بتاکاروتن موجود در این جلبک به شکل قابل توجهی سیستم ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان را تحریک می کند و اثر مثبتی بر افزایش مقاومت آن دارد.بنابراین با رعایت شرایط این آزمایش، می توان از جلبک دونالی یلا به عنوان یک ماده موثر در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان به منظور بهره گیری از خواص مثبت فیزیولوژیک آن استفاده نمود.**

**واژگان کلیدی:** جلبک دونالی یلا، *Dunaliella salina*، قزل آلای رنگین کمان، کمپلمان، پراکسیداز



Archive of SID

www.SID.ir

**مقدمه**

دونالی یلا یک جلبک سبز تک سلولی دوتاژکه و بدون دیوارهٔ سلولی است. گونه تیپیک آن *D.salina* می‌باشد. این جنس اولین بار در سال ۱۸۳۸توسط دونال در سواحل مدیترانه فرانسه بدست آمد (Dunal,1838)، که بعدها در سال ۱۹۰۵ توسط تئودورسکو توصیف شد و به نام دونال نام-گذاری شد. این شخص اولین کسی بود که دریافت رنگ قرمز آبگیرهای فوق اشباع از نمک بدلیل وجود این جلبک است ( Teodoresco, 1905). جلبک *Dunaliella salina* یکی از بهترین جنس‌های مورد مطالعه در شاخه کلروفیته آ با ۲۷ گونه می باشد. جنس دونالی یلا، جلبک سبز تک سلولی بسیار معتبر برای تولیدات اولیه در شوری بالا در محیط های مختلف جهانی می باشد.دونالی یلا سالینا از جمله جلبک های ریز دریایی است که حاوی رنگدانه بتاکاروتن و اسیدهای حلال مواد محرک ایمنی مانند فیکوسیانین، پلی ساکاریدها، آهن و روی می باشد (Qureshi and Ali, 1996). بتاکاروتن یکی از رنگدانه های طبیعی با خاصیت آنتی اکسیدانی قوی است ( Edge *et al.*, 1997) و به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی که این رنگدانه دارد، از آن در تهیه مکمل‌های غذایی و مواد دارویی استفاد می‌شود. (Tim *et al.*, 2007) ( تغذیه با جلبک دونالی یلا، به دلیل وجود مقدار فراوان بتاکاروتن باعث افزایش فعالیت کمپلمان (عامل مکمل) و لیزوزیم شده و در نهایت باعث افزایش سطوح ایمنی بدن می‌شود (Amar *et al.*, 2004). در آزمایش دیگری، در لاروهای گونه‌هایی از طوطی ماهی ( *Oplegnathus punctatus* و *Oplegnathus fasciatus* که با روتیفرهای غنی شده با بتاکاروتن تغذیه شده بودند، افزایش بقای لاروی مشاهده شد (Tachibana *et al.*, 1997).

Wang و همکاران (۲۰۰۶) اثر جلبک دونالی یلا روی فاکتورهای رشد، درصد بقا، رنگ پوست، گوشت و هم چنین توانایی آنتی اکسیدانی آن را روی ماهی بررسی کردند و نتیجه این آزمایش نشان داد که بتا کاروتن، باعث افزایش رنگدانه در پوست و گوشت ماهی، افزایش وزن، کاهش درصد تلفات و در نهایت باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی (سوپراکسیداز و پراکسیداز) می شود. هم چنین تاثیر پودر خشک شده این جلبک، روی رشد، عملکرد ایمنی و کاهش بیماری در میگوی ببری سیاه مورد آزمایش قرار گرفت که باعث افزایش وزن و کاهش عفونت ویروسی سندرم بیماری لکه سفید و هم چنین باعث کاهش استرس در میگو می شود. لازم به ذکر است که شدت رنگ در این میگو، با مقدار دونالی یلا موجود در جیره غذایی ارتباط مستقیم دارد. در آزمایش دیگری، در لاروهای گونه هایی از طوطی ماهی (*Oplegnathus punctatus* و *Oplegnathus fasciatus*) که با روتیفرهای غنی شده با بتاکاروتن تغذیه شده بودند، افزایش بقای لاروی مشاهده شد (Tachibana *et al.*, 1997). در سال های اخیر استفاده از دونالی یلا به عنوان منبع غذا و با در ترکیب با دیگرارگانیسم های دریایی مانند روتیفر و آرتمیا به عنوان استاندارد، در آکواریوم و هچری مورد استفاده قرار گرفته و معلوم شده است که علاوه بر افزایش وزن، باعث گسترش رنگ و بالا بردن محتوای چربی در میکروارگانیسم های دریایی می‌شود ( Wang *et al.*, 2006). سیستم کمپلمان مجموعه‌آی مشتمل بر بیش از ۳۵ نوع پروتئین سرمی است که ارتباطی تنگاتنگ و شدیداً کنترل شده با یکدیگر و سایر ملکول‌های سیستم ایمنی دارند و بسیاری از اعمال اجرایی ایمنی همورال و واکنش های التهابی را به انجام می‌رسانند



Archive of SID

www.SID.ir

(Sunyer *et al*., 1997). فعالیت پروتئین‌های کمپلمان در محدوده وسیعی از دما انجام شده و این امر بیانگر وجود یک مکانیزم طبیعی دفاعی قدرتمند در ارگانیزم های خونسرد است (Tort *et al*., 1996). بررسی‌ها نشان می‌دهند که ماهیان حاوی پروتئین‌های $C_3$، $C_4$ و $C_5$ بوده که شکسته شده و به ترکیبات آنافیلاکتیک تجزیه می‌شوند و قادر به آزادسازی آمین‌های وازواکتیو از سلول‌های ائوزینوفیلیک گرانولار (EGC) وترمبوسیت‌ها می‌باشند و علاوه بر آن $C_5$ دارای اثرات شیمیایی بسیار قوی روی نوتروفیل‌ها می‌باشد (Abbas *et al*., 2000). این پروتئین‌ها در سرم و موکوس نیز وجود داشته و در نتیجهٔ مکانیزم‌های آبشاری، که آسیب به غشای سلولی است، این سیستم به وسیلهٔ سه مسیر جداگانه (در هگ فیش‌ها تنها به وسیلهٔ یک مسیر کلاسیک) فعال می‌شود، که در نهایت منجر به تشکیل کمپلکس از بین برندهٔ غشاء می‌گردد. کمپلمان نقش مهمی را در فعال سازی مسیر های کلاسیک و لکتین بازی می کند. مسیر کلاسیک کمپلکس کمپلمان در نتیجه واکنش آنتی بادی-آنتی ژن فعال می‌گرددو علت اطلاق کلاسیک به آن، این است که در مقایسه با مسیر فرعی، مدت زمان طولانی‌تری از شناسایی آن می‌گذرد. مسیرهای فرعی کمپلمان مکانیزم هایی را جهت حذف پاتوژن‌ها بدون حضور آنتی بادی در اختیار میزبان می‌گذارند (Stoskopfe, 1993). این پروتئین‌ها در برابر حرارت به شدت ناپایدار می‌باشند. برخی از باکتری‌ها قادرند مستقیماً به وسیله لیزوزیم تجزیه شوند، اما در بسیاری موارد، غشاء دیواره سلولی باکتری‌ها ابتدا مورد حمله کمپلمان واقع شده تا لیزوزیم اثرات خود را القاء کند و کمپلمان از جمله فاکتورهای موثر بر ضد باکتری های گرم مثبت و گرم منفی محسوب می‌شود (Fast *et al*., 2002). پراکسیداز یک آنزیم درون سلولی است که توسط اندامک های درون سلولی پراکسی زوم تولید می‌شود، این اندامک درون سلولی با غشای دو لایه لیپیدی که در واقع به عنوان سیستم گوارش درون سلولی محسوب می‌شود، در هضم ساختارهای آسیب دیدهٔ سلولی، ذرات غذایی، عوامل پاتوژن و خنثی سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژنی نقش بسزایی دارد و هنگامی که ماهی در مواجهه با عفونت یا آلودگی قرار می‌گیرد، باعث افزایش تعداد پراکسی زوم سلولی می‌شود و بدین ترتیب رادیکال‌های آزاد را بلوکه کرده و مانع اکسید شدن چربی‌ها می‌شود (Kaatari and Piganelli, 1996). در این تحقیق دو هدف بنیادی و کاربردی که شامل کسب دانش و جمع‌آوری اطلاعات کافی در خصوص اثر جلبک دونالی یلا بر سیستم ایمنی و فیزیولوژی ماهی قزل آلای رنگین کمان و بررسی امکان کاربرد دونالی یلا در پرورش ماهی قزل آلا در راستای بهره‌گیری از خواص مثبت ایمنی، فیزیولوژیک و افزایش کیفیت و بازارپسندی در نظر می‌باشند. با توجه به این جلبک دارای خاصیت ضد سرطانی وآنتی اکسیدانی می-باشد، آیا با به کاربردن آن می‌توان باعث افزایش توان سیستم ایمنی و تغییر در شاخص‌های ایمنی کمپلمان و پراکسیداز، ماهی شد.

## مواد و روش ها

مراحل نمونه‌برداری این بررسی در کارگاه تکثیر و پرورش امامزاده علی واقع در ۷۵ کیلومتری شهر تهران، جاده هراز، در کنار رودخانه لار در دی ماه سال ۱۳۸۸ انجام پذیرفت. ۴۵۰ عدد ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با نژاد فرانسوی با وزن تقریبی ۱۰۰ گرم، در پنج گروه در حوضچه‌های سیمانی با ابعاد ۳۷×۱۰×۱۹۵ سانتی-متر که به سه قسمت مساوی تقسیم شده بودند، با میزان آب



Archive of SID

www.SID.ir

ورودی ۱/۵ لیتـر در ثانیـه نگهـداری شـدند. در طـی دورهٔ سازگاری و پیش از آغاز تغذیه با جیره‌های آزمایشـی، مـاهی ها به مـدت ۱۴روز بـا غـذای قـزل آلای غـذا دهـی GFT2 شدند. سپس ماهی‌ها با ۵ جیره آزمایشی در ۵ تکـرار در یـک دورهٔ ۹۰ روزه تغذیه شدند، ماهی‌ها ۲ بار در روز (ساعت‌های ۱۰ و ۱۶) و ۷ روز هفته به طور دستی غذادهی شدند. لازم بـه ذکر است که دراین بررسی از ماهیانی کـه در یـک دوره سـه ماهه به شرح زیر حاصل شده بودنـد اسـتفاده گردیـده اسـت. ابتـدا غلظـت مناسـبی از محلـول نشاسـته کـه در مقیـاس آزمایشگاهی بررسی و تعیین شـده بود،تهیـه گردیـد. جلبـک دونالی یلا سالینا در مقـادیر مختلـف ۲۱، ۳۱/۵، ۳۷/۵ و ۴۶/۵ گرم به محلول نشاسته اضافه شده و به دلیـل افتـی کـه وجـود داشت یک درصد جلبک به هر تیماراضـافه شـد. میـزان غـذا برای هر تیمار روزانه محاسبه و توزین شده و در اختیار مـاهی بر مبنای ۱/۸درصد وزن بدن قرار می گرفت (باقری، ۱۳۸۸).

غـذای دان مـورد اسـتفاده در ایـن تحقیـق از شـرکت Skretting ایتالیا بود که ترکیبات آن در جدول ۱ ارائه شده است.

**جدول ۱: تجزیه کمی غذای پایه مورد استفاده**

| ترکیبات | مقدار بر حسب درصد |
|---|---|
| پروتئین خام | ۴۳ |
| چربی خام | ۱۲ |
| فیبر | ۲/۸ |
| خاکستر | ۶/۸ |
| فسفر | ۰/۹ |

به دلیل اینکه هر گرم از جلبک دونالی یلا دارای ۱۰ تـا ۲۰ میلی گرم بتاکاروتن می باشد( باقری، ۱۳۸۸)، میـزان جلبـک خالص مورد نیاز برای هرکیلوگرم غذا در تیمارهای مشـخص شده ۵، ۷، ۹ و ۱۱ گرم بود، ولی از آن جا که جلبک خشک شده مورد استفاده در این تحقیق دارای ۳۰ درصد نمک بـود، لذا به هر کیلوگرم غذا به ترتیب ۷، ۱۰/۵، ۱۲/۵ و ۱۵/۵ گـرم جلبک اضـافه گردیـد. جلبـک مـورد نیـاز تحقیـق از موسسـه تحقیقـات علمـی _ صـنعتی ایـران، آزمایشـگاه بیوتکنولـوژی فراهم گردید. نمونه این جلبک برای کشت از دریاچه حوض سلطان (نزدیکـی شـهر قـم) در اردیبهشـت مـاه، در دمـای ۴۸ درجه سانتی گراد جمع آوری شده و بعد از خـالص سـازی و کشت دادن در آزمایشـگاه و قـرار گـرفتن در شـرایط خـاص (استرس نوری و افـزایش غلظـت نمـک از ۱۵ درصـد بـه ۳۰ درصد ) تولید رنگدانه بتاکـاروتن نمـود. سـپس بـه وسـیله دستگاه سانتریفیوژ با نام تجـاری Separator (مـدل ۲۰۴ و MAB، - ۸۴۰۰ دور در دقیقـه، سـاخت سـوئد) جلبـک از محیط کشت جمع آوری گردید و پس از خشـک کـردن بـه شـکل آرد جلبـک بـا ۳۰ درصـد نمـک در آزمـایش مـورد استفاده قرار گرفت. آب مـورد نیـاز از چشـمه‌ای کـه در بـالا دست کارگاه قرارداشت، تامین شد کـه طـی دورهٔ آزمـایش، دمای آب ۱+۱۴ درجه سانتی‌گراد و میزان پـی اچ و اکسـیژن محلول در آب به ترتیب ۷/۵ و ۹/۵ میلی‌گرم در لیتر بود.



Archive of SID

www.SID.ir

عملیات نمونه برداری در یک دورهٔ سه ماهه صورت گرفت، به طوری که در ابتدای ماه اول (شاهد۱) ۲۵ نمونه و در انتهای ماه سوم (شاهد۲) ۲۵ نمونه از گروه شاهدها و تیمارها به همراه تکرارهایشان به صورت تصادفی از هر مخزن ۵ ماهی برداشت شد. پس از بیهوش کردن با عصارهٔ گل میخک (۵۰۰۰ : ۱) آنها را خارج کرده ( مهرابی، ۱۳۷۸) و قسمت دمی هر یک رابا حوله کاملاً خشک کرده و به صورت معمولی و از پهلو بر روی میز گذاشته و از طریق قطع ساقهٔ دمی خونگیری انجام پذیرفت (کلباسی، ۱۳۷۸). خون هر نمونه به صورت جداگانه درون یک لوله آزمایش انتقال یافت. لوله‌های آزمایشگاهی حاوی خون داخل فلاسک یخ و به سرعت به آزمایشگاه همت انتقال داده شد تا شاخص‌های مورد نظر در خون این ماهیان مورد بررسی قرار گیرد. در آزمایشگاه، لوله‌های شیشه‌ای در داخل دستگاه سانتریفیوژ با دور ۴۶۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند تا در نهایت سرم خون آنها جداسازی و تا زمان انجام آزمایش های نهایی در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردیدند. شاخص های، با استفاده از کیت‌های تجاری مخصوص (شرکت پارس آزمون) با شماره ۱-۸۸۰۰۱ و بر اساس روش ایمونوتوربیدی متریک (Thomas, 1998) و شاخص به روش الایزا (دیوی و برنارد، ۱۹۹۶) با دستگاه Cobasmira (Roche) با دقت ۰/۱ اندازه گیری و به روش اتوآنالایزرخوانده شدند.

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های کمی از آنالیز واریانس یک طرفه و برای تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف‌معنی‌دار بین میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح احتمال($P<۰/۰۵$) استفاده شد و برای تجزیه وتحلیل داده‌ها از آزمون کلموگروف اسمیرنوف و برای بررسی همگنی داده‌ها از آزمون لون (Leven) در نرم افزار SPSS استفاده شد (Zar, 1999).

## نتایج

نتایج حاصل از سنجش کمپلمان‌های $C_3$، $C_4$ و پراکسیداز، در دوره‌ی ۹۰ روز آزمایش، به صورت میانگین در جدول ۲ ارائه گردیده است. نتایج این جدول نشان می دهد که میانگین $C_3$ در نمونه های شاهد ۱ با مقدار ۱/۰۴ کمتر از میانگین $C_3$ در نمونه های شاهد ۲ با مقدار ۱/۳۶ بود. بیشترین میزان $C_3$ در تیمار ۲ با مقدار ۲/۱ و کمترین میزان آن در تیمار ۳ با مقدار ۱/۶۸ مشاهده شد. طبق این جدول میانگین $C_4$ در نمونه های شاهد ۱ با مقدار ۰/۵۷ کمتر از میانگین $C_4$ در نمونه های شاهد ۲ با مقدار ۱/۶۴ بود. بیشترین میزان $C_4$ در تیمار ۲ با مقدار ۲/۰۸ و کمترین میزان آن در تیمار ۳ با مقدار ۱/۷۴ دیده شد. نتایج بدست آمده از سنجش پراکسیداز، بیشترین میزان فعالیت پراکسیداز را در تیمار ۴ بامقدار ۱/۲۲ نشان داد.آنالیزهای آزمایشگاهی با ۵ تکرارانجام شده است که درجدول ۲ آورده شده است.



Archive of SID

www.SID.ir

**جدول۲: میانگین تغییرات میزان $C_3$، $C_4$ و پراکسیداز در ماهی قزل آلای تغذیه شده باجلبک دونالی یلا از زمان شروع و سه ماه پس از پرورش**

| زمان | تیمارهای آزمایشی | $C_3$ ( میلی گرم / دسی لیتر) | $C_4$ ( میلی گرم/ دسی لیتر) | پراکسیداز (مول/ لیتر) |
|---|---|---|---|---|
| | | میانگین | میانگین | میانگین |
| شروع آزمایش | شاهد ۱ | ۱/۰۴ | ۰/۵۷ | ۰/۱۲ |
| | شاهد ۲ | ۱/۳۶ | ۱/۶۴ | ۰/۳۱ |
| ۳ ماه بعد | تیمار ۱ | ۱/۸۶ | ۱/۸۶ | ۰/۲۸ |
| | تیمار۲ | ۲/۱ | ۲/۰۸ | ۰/۲ |
| | تیمار ۳ | ۱/۶۸ | ۱/۷۴ | ۰/۳۵ |
| | تیمار ۴ | ۱/۷۶ | ۱/۷۸ | ۱/۲۲ |

نتایج بدست آمده در این آزمایش نشان دادند که تغییرات سطح کمپلمان $C_3$ در پلاسمای ماهی هایی که با جلبک دونالی یلا تغذیه شده‌اند، از روند یکسانی برخوردار نبوده و در مقایسه با ماهی های گروه شاهد اختلاف معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) دیده شد. میزان $C_3$ در تمامی تیمارهای آزمایشی افزایش یافته بود. بیشترین میزان افزایش متعلق به تیمار ۲ است،که نسبت به دیگر گروه ها در حد بالاتری قرار داشت.

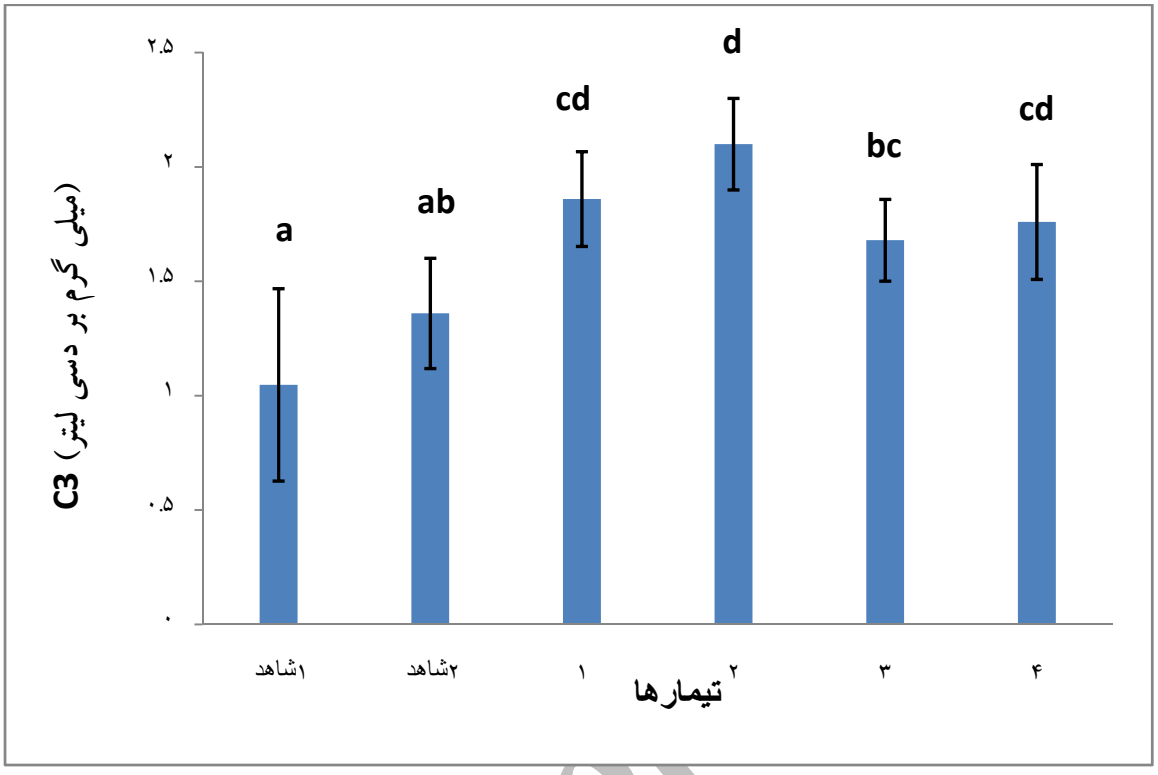
میزان $C_3$ در پلاسمای ماهی های گروه شاهد ۱ در مقایسه با ماهی های گروه های تیمار دارای اختلاف معنی دار بود.

نتایج حاصل از آزمون واریانس یک طرفه و مقایسه میانگین ها توسط آزمون دانکن در شکل۱ به صورت میانگین + انحراف معیار ارائه شده، که حروف متناوب نشانگر وجود اختلاف معنی دار از نظر آزمون دانکن می باشد.

Archive of SID



www.SID.ir



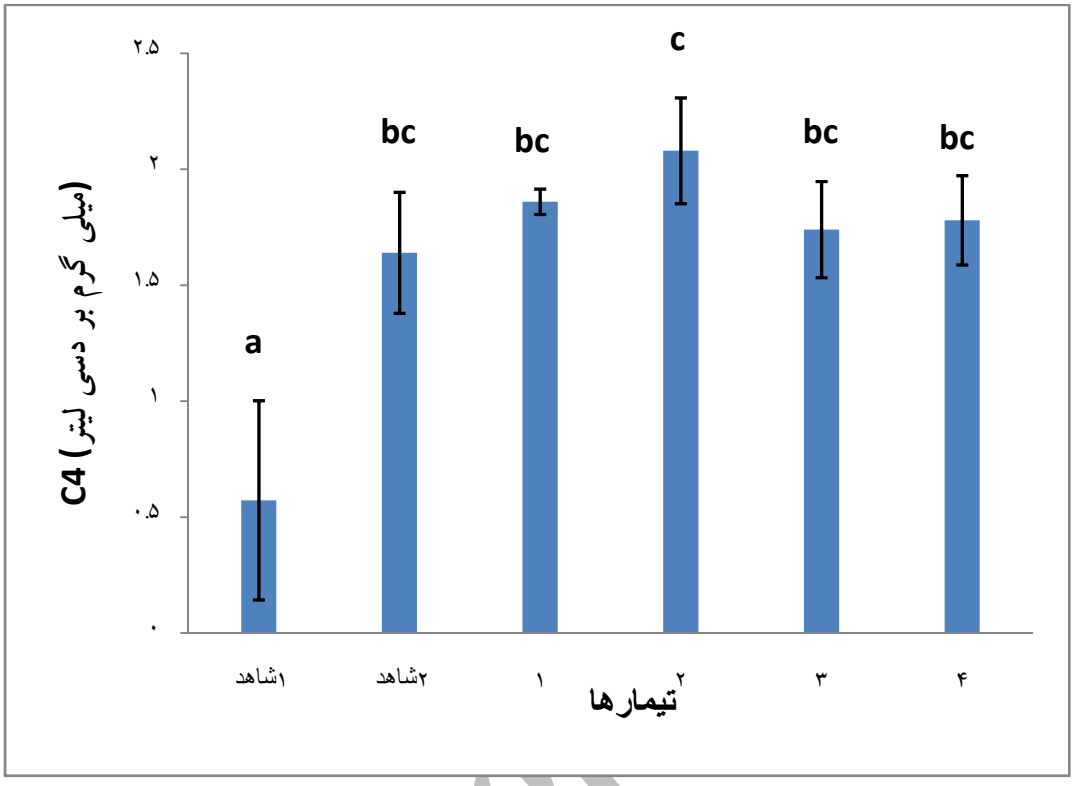

شکل ۱: میانگین تغییرات کمپلمان $C_3$ وانحراف معیارهای مربوطه درنمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی در ماهی قزل آلای تغذیه شده باجلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) (۱۳۸۸)

تغییرات سطح کمپلمان $C_4$ در پلاسمای ماهی‌هایی که با جلبک دونالی یلا تغذیه شده بودند، در مقایسه با ماهی های گروه شاهد ۱ افزایش معنی‌داری ($p<0/05$) را نشان دادند. میزان $C_4$ در پلاسمای ماهی‌های گروه شاهد ۲ نسبت به ماهی‌های گروه شاهد ۱ به طور معنی‌داری افزایش داشت. میزان $C_4$ در تمامی نمونه‌های آزمایشی افزایش یافته و بیشترین میزان افزایش متعلق به تیمار ۲بود. تیمار های ۱و۴ به ترتیب پس از آن قرار داشتند (شکل۲).

Archive of SID



www.SID.ir



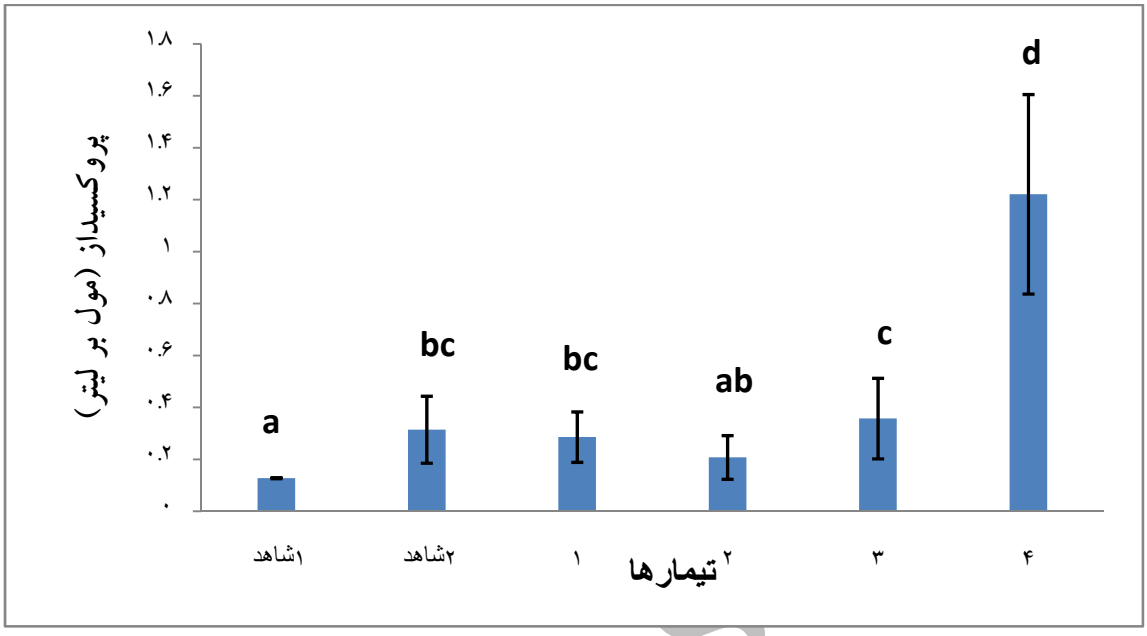

شکل۲: میانگین تغییرات کمپلمان $C_4$ وانحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی درماهی قزل‌آلای تغذیه شده باجلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) (۱۳۸۸)

سطح فعالیت پراکسیداز در پلاسما، در ماهی هایی که با جلبک دونالی یلا تغذیه شده بودند، در مقایسه با ماهی های گروه شاهد۱ افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) را نشان دادند. میزان فعالیت پراکسیداز در پلاسمای ماهی های گروه شاهد ۲ به طور معنی‌داری بیشتر از ماهی‌های گروه شاهد ۱ بود.

افزایش میزان پراکسیداز از روند یکسانی برخور دار نبود ولی میزان آن در تیمار ۴ به طور چشمگیری افزایش یافته، به طوری که افزایش نهائی در تیمار ۴ به خوبی قابل مشاهده بود و افزایش سطح پراکسیداز بیانگر این موضوع است که بین داده‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد (شکل۳).



Archive of SID
www.SID.ir




شکل۳: میانگین تغییرات پراکسیداز وانحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی در ماهی قزل آلای تغذیه شده باجلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) (۱۳۸۸)

نتایج حاصل از زیست سنجی (وزن و طول کل) در دوره ی ۹۰ روز آزمایش، به صورت میانگین در جدول۳ ارائه گردیده است. نتایج این جدول نشان می دهد که میانگین وزن در نمونه های شاهد ۱ با مقدار ۱۰۲/۶ گرم کمتراز میانگین وزن در نمونه های شاهد ۲ با مقدار ۴۶۰ گرم بود. بیشترین میزان وزن در تیمار ۴ با مقدار ۵۵۰ گرم و کمترین میزان آن در تیمار ۱ با مقدار ۴۵۰ گرم مشاهده شد. طبق این جدول میانگین طول در نمونه های شاهد ۱ با مقدار ۲۰/۳۶ سانتی متر کمتر از میانگین طول در نمونه های شاهد ۲ با مقدار ۲۸/۴ سانتی متر بود.بیشترین میزان طول در تیمار ۴ با مقدار ۳۰/۷۴ سانتی متر و کمترین میزان آن در تیمار ۱ با مقدار ۲۹/۲ سانتی متر دیده شد.

Archive of SID



www.SID.ir

**جدول۳: میانگین تغییرات وزن و طول و شاخص وضعیت در ماهی قزل آلای تغذیه شده با جلبک دونالی یلا از زمان شروع و سه ماه پس از پرورش (۱۳۸۸)**

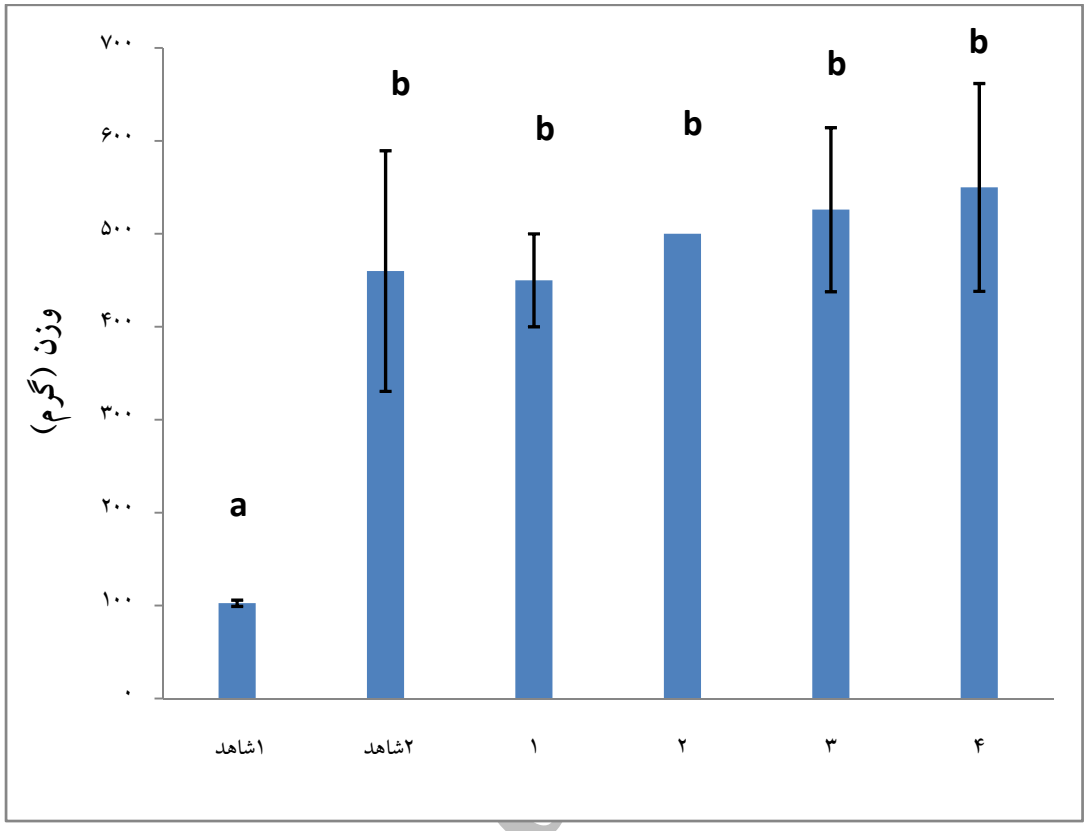
| زمان | نمونه ها | میانگین | | میانگین |
|---|---|---|---|---|
| | | وزن (گرم) | طول (سانتیمتر) | شاخص وضعیت درصد |
| شـــــروع آزمایش | شاهد ۱ | ۱۰۲/۶ | ۲۰/۳۶ | ۱/۲۲ |
| | شاهد ۲ | ۴۶۰ | ۲۸/۴ | ۱/۹۷ |
| ۳ماه بعد | تیمار۱ | ۴۵۰ | ۲۹/۲ | ۱/۸۳ |
| | تیمار۲ | ۵۰۰ | ۳۰ /۲ | ۱/۸۲ |
| | تیمار۳ | ۵۲۶ | ۳۰ /۹ | ۱/۷۷ |
| | تیمار۴ | ۵۵۰ | ۳۰/۷۴ | ۱/۸۷ |

با توجه به داده های حاصل از فاکتور وزن و نتایج حاصل از آزمون دانکن،به خوبی مشخص می شود، که با افزایش میزان جلبک در جیره غذایی، رشد ماهی ها به یک اندازه افزایش یافته است و اختلاف آماری معنی داری در تیمار ها و ماهیان گروه شاهد ۲ دیده نشد ($p<۰/۰۵$). جلبک دونالی یلا به لحاظ داشتن مواد معدنی ضروری برای بدن، باعث افزایش رشد در ماهی قزل آلای رنگین کمان شد. وزن ماهی ها در تمامی تیمار ها افزایش یافته است. بیشترین افزایش وزن در تیمار ۴ وپس از آن در تیمار ۳ مشاهده شد (شکل۴).

Archive of SID



www.SID.ir

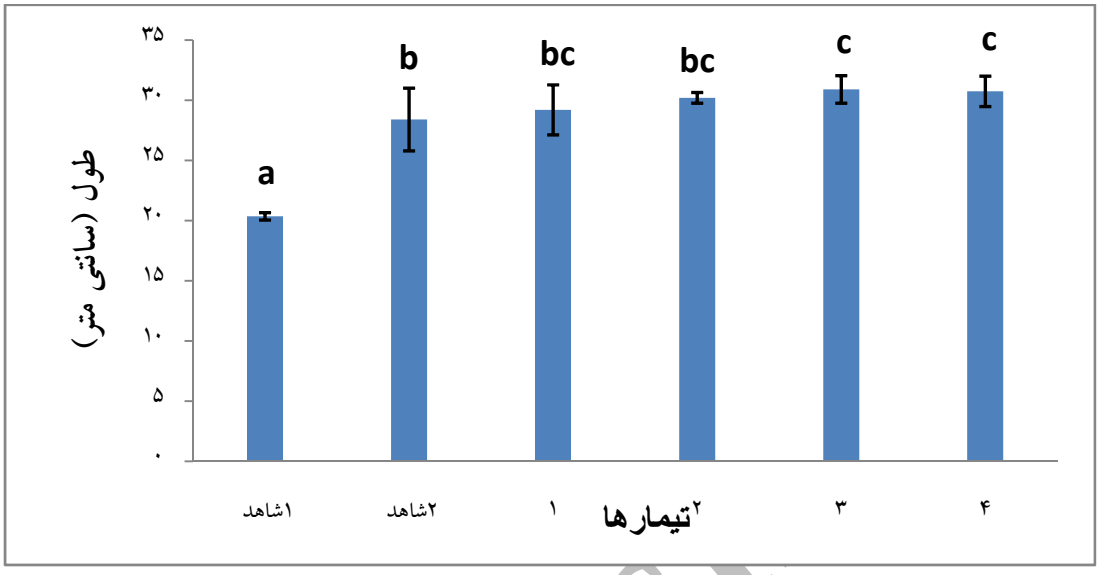



شکل۴: میانگین وزن وانحراف معیار های مربوطه در نمونه های شاهد و تیمار های آزمایشی در ماهی قزل آلای تغذیه شده با جلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) (۱۳۸۸)

نتایج حاصل از فاکتور طول و آزمون دانکن نشان دهنده این است که طول ماهی های تغذیه شده باجلبک دونالی یلا درمقایسه با گروه شاهد ۲ به طور معنی داری افزایش یافته است. به طوری که بیشترین میزان افزایش در تیمار ۴ و۳ مشاهده گردید. از نکات قابل توجه این است، که از نظر میزان غذای مصرفی بین تیمار ها اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت ($p < ۰/۰۵$) و با افزایش مقدار جلبک در جیره غذایی طول ماهی ها افزایش یافت.

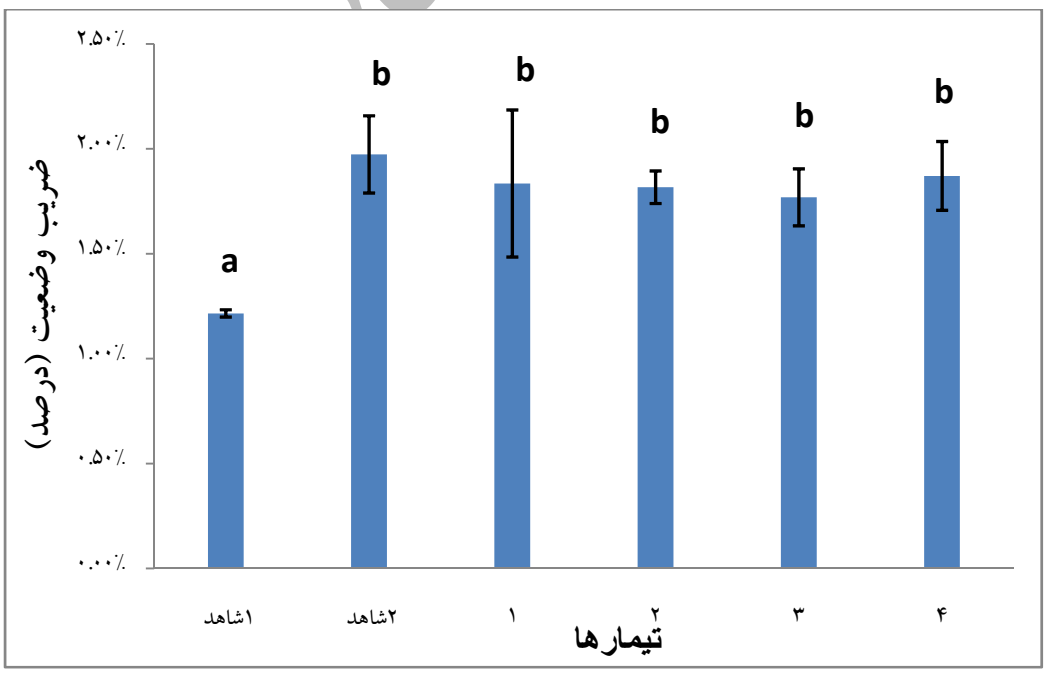


Archive of SID
www.SID.ir




شکل۵: میانگین طول وانحراف معیار های مربوطه در نمونه های شاهد تیمار های آزمایشی ماهی قزل آلای تغذیه شده با جلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) (۱۳۸۸)

نتایج حاصل از بررسی شاخص ضریب وضعیت نشان می دهد که رشد ماهی در تمامی تیمار ها به یک اندازه افزایش یافته و اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه کنترل دیده نمی شود($p > ۰/۰۵$) (شکل۶).




شکل ۶: میانگین ضریب وضعیت و انحراف معیار های مربوطه در نمونه های شاهد و تیمار های آزمایشی در ماهی قزل آلای تغذیه شده با جلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) (۱۳۸۸)



www.SID.ir

## بحث و نتیجه گیری

جلبک دونالی یلا از جمله جلبک های ریز شناور در آب است که حاوی رنگدانه بتاکاروتن واسیدهای حلال مواد محرک ایمنی مانند فیکوسیانین، پلی ساکاریدها، آهن و روی می باشد(Qureshi and Ali, 1996). فعالیت کمپلمان سرم در پلاسمای ماهی‌های تغذیه شده با جلبک دونالی یلا بالا بود، زیرا تغذیه با جلبک دونالی یلا به دلیل وجود مقدار فراوان بتاکاروتن باعث افزایش فعالیت کمپلمان‌های $C_3$ و $C_4$ شده و در نتیجه باعث افزایش سطح ایمنی بدن می‌شود. تغییرات کمپلمان سرم درحفاظت از سیستم ایمنی غیر اختصاصی در ماهیان بسیار مهم می‌باشد و بالا بودن سطوح $C_3$ و $C_4$ پلاسما در سلامتی ماهیان موثراست (Yano *et al*., 1992). افزایش فعالیت کمپلمان سرم در ماهی قزل آلای رنگین کمان ممکن است به دلیل این باشد که بتاکاروتن طبیعی این جلبک یک رسپتور جدید را که متعلق به رسپتور × رتینوئید (R×R) با پیوند لیگاندی برای کاروتنوئیدها و رتینوئیدها می باشد را فعال کرده است (Zhang *et al*., 1992). علاوه بر آن عناصر پاسخ گوی اسید رتینوئیک در ناحیهٔ پشتیبانی ژن H (ژن مسئول سنتز کمپلمان ) فاکتور کمپلمان باعث افزایش mRNA ژن H و سطوح پروتئین سلول‌ها می شوند ( Munoz-canoves *et al*., 1990). در این بررسی با وجود سطوح پایین بتاکاروتن سرم، تأثیر معنی داری بر روی برخی شاخص‌های ایمنی مشاهده شد و علت پایین بودن سطح بتاکاروتن سرم این است که این ماده قبل از اینکه در روده به وسیله لنف و خون سیاهرگ باب جذب شود، به ویتامین A و سایر مشتق‌های موثرش مانند رتینوئیدها تبدیل می‌شود Jyonouchi *et al*., 1994 ). بررسی اثر مکمل غذای حاوی ویتامین A توسط Thompson و همکاران در سال ۱۹۹۵ نشان داد که افزایش سطوح ویتامین A در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) موجب افزایش فعالیت سیستم کمپلمان و لیزوزیم می‌شود، به عبارت دیگر سطوح بالای ویتامین A باعث افزایش فعالیت سرم آنتی پروتئاز شده و هم چنین میزان فعالیت فاگوسیتوزی و ضد باکتریایی را افزایش می-دهد (Thompson *et al*., 1995). پاسخ‌های موفقیت آمیزی که تاکنون مشاهده شده، از همین مقدار کم بتاکاروتن بوده است، لازم به ذکر است که سطوح کاروتنوئیدی پلاسما برای تعدیل سازی ایمنی در ماهی‌ها مورد نیاز است و این پژوهش نشان داد که مکمل‌های غذایی کاروتنوئیدی، مکانیسم‌های حفاظتی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را تعدیل می‌کنند واز سیستم ایمنی غیراختصاصی در ماهیان محافظت می‌نمایند. در مورد بررسی اثر جلبک دونالی یلا روی شاخص‌های ایمنی می‌توان به تحقیقی که توسط Amar و همکاران در سال ۲۰۰۴ انجام شد، اشاره نمود. در این بررسی اثر جلبک دریایی دونالی یلا حاوی رنگدانه بتاکاروتن و مخمر *Phaffia rhodazyma* حاوی رنگدانه آستاگزانتین روی مکانیسم‌های حفاظتی غیر اختصاصی در ماهی قزل آلای رنگین کمان نشان داد که رنگدانه‌های کاروتنوئیدی موجب افزایش فعالیت سیستم کمپلمان و لیزوزیم شده ودر نتیجه باعث افزایش تعداد کل لکوسیت‌ها و سلول‌های بیگانه خوار می‌شود. میزان ایمونوگلوبولین ها در پلاسمای ماهی‌هایی که با جلبک دونالی یلا تغذیه شده بودند افزایش یافت (Amar *et al*., 2004). فعالیت سیستم کمپلمان از اتصال قسمت C1q کمپلمان C1به FC آنتی بادیIgG آغاز می شود که این کمپلکس با تجزیه $C_4$، $C_3$ را فعال می سازد.اجزای سازنده کمپلمان‌های $C_3$ و $C_4$ متعلق به فوق خانوادهٔ ماکروگلوبولین آلفا -۲ می‌باشند که این سیستم در برگیرندهٔ مجموعه ای از پروتئین‌هاست (Dodds



Archive of SID

www.SID.ir

(and law ,1998. بیشتر فرم‌های ترکیبی $C_3$ در ماهیان استخوانی دیده می‌شود که فرم‌های ترکیبی $C_3$ تأثیرات پیوندی متفاوتی را در سطوح فعال شده کمپلمان ایجاد می‌کنند و ماهیان استخوانی با به کارگیری یک روش جدید برای کسب ایمنی ذاتی و نابودی مکیروب‌ها آمادگی بهتری پیدا می‌کنند.

$C_4$ نقش اصلی را در فعال سازی روش‌های کلاسیک ولکتین مانند فاکتورB و $C_2$، $C_4$ که درناحیه MHCIII قرار دارند، بازی می‌کند (Law *et al*., 1984). $C_4$ یک پروتئین بتا-۱ است، که به وسیله $C_{1S}$ فعال می‌شکند و تبدیل به $C_{4a}$ و $C_{4b}$ می‌شود. $C_{4b}$ و $C_{2a}$ بر روی یکدیگر اثر متقابل گذاشته و تبدیل گر $C_3$ در مسیر کلاسیک را شکل می‌دهند. مولکول‌های $C_4$ در بعضی از گونه‌های ماهی‌های استخوانی به صورت کلونی تولید می‌شوند، اگر چه توصیف کاربردی پروتئین $C_4$ تنها در ماهی قزل آلای رنگین کمان مشخص شده است. پروتئین $C_4$ قزل آلا به شکل کلونی تولید شده و توالی اولیه آن در مادهٔ اصلی ناحیه ی PNPVIH، تنها با یک ژن منفرد برای کدگذاری $C_4$ یافت شده است (Boshra *et al*., 2004). دو پروتئین $C_4$ در ماهی قزل آلا، تنها در صورت وجود $Ca^{2+}$ و $Mg^{2+}$ به یکدیگر می‌چسبند و موجب افزایش پروتئین $C_4$ می‌شوند و اگر هر دو مولکول در مسیر فرعی به طور یکسان برگردانده شوند، از فعالیت همولیتیک سرم $C_4$ و $C_3$ قزل آلا کاسته می‌شود. بازسازی فعالیت همولیتیک ۱- $C_3$ و۱- $C_4$، ۲- $C_4$ بستگی به وجود IgM چسبیده به سلول های هدف در ماهی قزل آلای رنگین کمان دارد(Boshra *et al*., 2004). در این بررسی معلوم شد که افزایش میزان $C_4$ در اثر افزایش فعالیت همولیتیک حاصل می‌شود و میزان ایمونوگلوبولین-های IgM چسبیده به سلول هدف می‌توانند در میزان این شاخص موثر باشند. کمپلمان‌ها در واقع پروتئین‌های فاز حاد سیستم ایمنی محسوب می‌شوند و غلظت آنها معمولاً پس از نکروز سلولی و مرگ بافتی تغییر می‌کند. به عبارتی تغییر سطح کمپلمان‌ها به عنوان یک پاسخ فاز حاد ایمنی، نوعی واکنش سیستمیک تعمیم یافته محسوب می‌شود، که می‌توان آن را به التهاب و پاسخ ایمنی ذاتی مربوط دانست (Poortmuns, 1987).

سطح فعالیت پراکسیداز با افزایش مقدار دونالی یلا و افزایش بتا کاروتن ا فزایش یافت. بتاکاروتن موجود در دونالی یلا پیش ساز ویتامین A و دفع کنندهٔ اکسیژن است، به همین دلیل می‌تواند از طریق خاصیت آنتی اکسیدانی و مسیرهای رتینوئیدی بر سیستم ایمنی ماهی تأثیر بگذارد افزایش میزان بتاکاروتن باعث سرکوب $O_2^-$ می‌شود که این عمل با خاصیت آنتی اکسیدانی بتاکاروتن سازگاری دارد. زمانی که پلاسما یا غشاء فاگوزوم تحریک می‌شود، سلول-های فاگوسیتیک $O_2^-$ را با کاهش یک الکترون از مولکول $O_2$ تولید می کنند و هنگامی که کاروتنوئیدها در این سلول ها موجود هستند، $O_2^-$ درست در مراحل اولیه تحریک سرکوب می‌شود و کاروتنوئیدها توانایی این را دارند که رادیکال های آزاد را بلوکه کرده و به عنوان آنتی اکسیدان عمل نمایند(Nakagawa *et al*., 1996). بتاکاروتن موجود در رژیم غذایی قزل آلا باعث کاهش حساسیت کبد به پرواکسید شد ن چربی‌ها می‌شود و توانایی حفاظتی کبد در مقابل استرس اکسید شدن افزایش می‌یابد، که در نهایت موجب نابودی بسیاری از باکتری‌ها شده و از آسیب رساندن به غشاء سلولی جلوگیری می‌کند (Nakano *et al*., 1999). مطالعه روی مکانیزم‌های فاگوسیتوز نشان داده است که بتا کاروتن موجب افزایش ترکیب فاگوزوم –لیزوزیم شده، که این یک پدیدهٔ مرتبط با تغییرپذیری غشای



Archive of SID

www.SID.ir

لیزوزیمی می‌باشد (Okai and Higashi, 1996). در مدت زمان فعالیت فاگوسیتیک، واکنش‌های موثر و متقابل بین غشاهای درون سلولی و غشاء پلاسما وجود دارد،که در نهایت موجب سازمان دهی در سیستم غشای سلولی می‌شود (Bainton *et al*., 1989). در واقع آنتی اکسیدان‌ها از غشای سلولهای فاگوسیتوز کننده در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می کنند. بتاکاروتن پیش ساز ویتامین A و دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است و علاوه بر آن بتاکاروتن به عنوان یک آنتی بادی تأثیرگذار است. تأثیرات آنتی بادی بتاکاروتن رابطه نزدیکی با ویژگی‌های آنتی اکسیدان دارد، زیرا باعث افزایش مقاومت ماهی در برابر بیماری‌های عفونی و عوامل بیماری زای باکتریایی و ویروسی میشوند (Tachibanan *et al*., 1997).

توانایی آنتی اکسیدانی (Total antioxidant status) TAS شامل فعالیت آنزیمی و غیر آنزیمی آنتی اکسیدان می‌شود و هر چه مقدار TAS بالاتر باشد،توانایی آنتی آکسیدانی افزایش می یابد.نتایج این بررسی، براساس تحقیقاتNakano و همکاران در سال ۱۹۹۵ و ۱۹۹۹ نشان داد که بتاکاروتن به طور قابل توجهی سطوح پراکسیداز لیپید کبد را در ماهی قزل آلای رنگین کمان کاهش می‌دهد (Nakano *et al*., 1995)، (Nakano *et al*., 1999) و در ماهی های تغذیه شده با مکمل غذایی کاروتنوئیدی تغییر چشم گیری د ر محتوای پروفیل لیپید و هپاتیت موکوپلی ساکارید دیده می‌شود (Page *et al*., 2005). Lygren و همکاران در سال ۱۹۹۹ نشان دادند در مکمل‌های غذایی کاروتنوئیدی، که دارای سطوح بالاتری از آنتی اکسیدان‌های قابل حل در چربی مانند آستاگزانتین و ویتامین E می باشند، یک نیاز کاهشی برای آنزیم‌های آنتی اکسیدان انروژینوس، مانند سوپراکسیداز دسموتاز برای حفاظت در برابر $H_2O_2$ و $O_2$ وجود دارد (Lygren *et al*., 1999). در آزمایش دیگری که بر روی میگوی ببری سیاه انجام شد، میگوهای تغذیه شده با مکمل غذایی حاوی آستاگزانتین AST/SOD کمتری نسبت به گروه کنترل از خود نشان دادند (Chien *et al*., 2003).

با توجه به نتایج به دست آمده، افزایش سطوح کمپلمان و پراکسیداز، نشان دهندۀ تأثیر این جلبک در حفاظت ازسیستم ایمنی، افزایش مقاومت در برابر بیماری و در نتیجه افزایش نرخ بقای ماهی‌ها در دورۀ پرورش می‌باشد. توجه به این نکته مهم است که کاهش سطح کمپلمان پلاسما، ماهی‌ها را نسبت به ابتلاء به عفونت‌های باکتریایی مستعد می‌نماید.

## سپاسگزاری

از تمام عزیزانی که در مراحل انجام این پژوهش همکاری نمودند وهم چنین مدیریت محترم کارگاه تکثیر و پرورش امامزاده علی و مسئول محترم آزمایشگاه تحقیقاتی تشخیص غدد، تشکر و قدردانی می گردد.



Archive of SID
www.SID.ir

## منابع


**۱. باقری، ک.، ۱۳۸۸.** بررسی اثر جلبک دونالیلا بر روی تغییر رنگ گوشت و رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان ۱۰۰ گرمی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشکده علوم و فنون دریایی.۵۷ ص.

**۲.دیوی، ف. و جان برنارد، هـ، ۱۹۹٦.** خون‌شناسی، انعقاد و طب انتقال خون. ترجمه: احمدی، ک.، م. مجتهدزاده، و درخشان (۱۳). انتشارات تیمورزاده. تهران، ۴۵۰ ص.

**۳.کلباسی، م.، ۱۳۷۸.** تهیه کاریوتایپ کروموزومی از جنین،لاروو fry،ماهی قزل آلای رنگین کمان.طرح پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس.۶۸ ص.

**٤.مهرابی، ی.، ۱۳۷۸.** مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی پودر گل درخت میخک (*Syzygium aromaticum*) بر روی ماهی قزل الای رنگین کمان.مجله پژوهش وسازندگی.۴۲،۴۱،۴۰ :۱۶۰-۱۶۲.

**5.Abbas, A.K., lichtman, A.H. and Pober, J.S., 2000.** Cellular and molecular immaunology. W. B. Sounders, U.S.A. 545p.

**6.Amar, E.C., Kiron, V., Satoh S. and Watanabe, T., 2004.** Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Japan.pp: 527-537.

**7.Bainton, D.F., Takemura, R., Stenberg P.E. and Werb, Z., 1989.** Rapid fragmentation and reorganization of Golgi membranes during frustrated phagocytosis of immobile immune complexes by macrophages. Am J Pathol 134, pp. 15–26.

**8.Boshra, H., Gelman, A.E. and Sunyer, J.O., 2004.** Structural and functional characterization of complement C4 and C1s-like molecules in teleost fish: insights into the evolution of classical and alternative pathways, J Immunol 173, p. 349.

**9.Chien, Y.H., Pan, C.H. and Hunter, B., 2003.** The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juvenile fed diets supplemented with astaxanthin, Aquaculture 216 , pp. 177–191.

**10.Dodds, A.W. and Law, S.K., 1998.** The phylogeny and evolution of the thioester bond-containing proteins C3, C4 and alpha 2-macroglobulin Immunol. Rev 166, p. 15.

**11.Dunal, F., 1838.** Extrait dun memori surles algues quicolorant enrouge certains eauxdes marais salasts mediterraneens Edge, R., D. J, McGarvey. T. G, Truscott. 1997. The carotenoid as antioxidants a Review. Journal of Photochemistry and Photobiology :Biology,189-200.

**12.Edge, R., McGarvey, D.J. and Truscott, T.G., 1997.** The carotenoid as antioxidants a Review. Journal of Photochemistry and Photobiology :Biology,189-200.

**13.Fast, M.D., Sims, D.E., Burka, G.F., Mustafa, A. and Ross, N.W., 2002.** Skin morphology and humoral non-specific defence parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. Comp. Biochem. Physiol132 (A). pp: 645-657.




Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Agriculture and Food Chemistry 43, pp. 1570–1573.

**21.Nakano, T., Miura, Y., Yazawa, M., Sato, M. and Takeuchi, M., 1999.** Red yeast *Phaffia rhodozyma* reduces susceptibility of liver homogenate to lipid peroxidation in rainbow trout. Fisheries Sci 65, pp. 961–962.

**22.Okai, Y. and Higashi- Okai K., 1996.** Possible immunomodulating activities of carotenoids in in vitro cell culture experiments. J Pharmacol 18, pp. 753–758.

**23.Page, G.I., Russell, P.M. and Davies, S.J., 2005.** Dietary carotenoid pigment supplementation influences hepatic lipid and mucopolysaccharide levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Comparative Biochemistry and Physiology. B Biochemistry & Molecular Biology142, pp. 398–402

**24.Poortmuns, J.R., 1987.** serum protein determinuation during short exhanustive physical activity. Journal of applied physiology. (30); PP: 190-192.

**25.Qureshi, M.A. and Ali, R.A., 1996.** *Spirulina platensis* exposure enhances macrophage phagocytic function in cats. Immunopharmacol Immunotoxicol 18, pp. 457–463.

**26.Stoskopfe, M.A., 1993.** Fish medicine. Sounders Company, U.S.A. 882 p.

**27.Sunyer, J.O., Ort, L.T. and Lambris, J.D., 1997.** Diversity of the third form of complement, C3, in fish: functional characterization of five forms of C3 in the diploid fish( *Sparus aurata)*. Biochem J 326, p. 877.

**28.Tachibana, K., Yagi, M., Hara, K., Mishima, T. and Suchimote, M.,**

**14.Jyonouchi, H., Zhang, L., Gross, M. and Tomita, Y., 1994.** Immunomodulating actions of carotenoids: enhancement of in vivo and in vitro antibody production to T-dependent antigens. Nutr Cancer pp. 47–58.

**15.Kaattari, S.L. and Piganelli, J.D., 1996.** The specific Immune system of human defence:The fish Immune system: Organism , Pathogen and Enviroment. Iwama ,G.and T. Nakanishi . Academic Press, Inc USA.

**16.Law, S.K., Dodds A.W. and Porter, R.R., 1984**. A comparison of the properties of two classes, C4A and C4B, of the human complement component C4, EMBO J 3, p. 1819.

**17.Lygren, B., Hamre, K. and Waagboe, R., 1999**. Effects of dietary pro- and antioxidants on some protective mechanisms and health parameters in Atlantic salmon, Journal of Aquatic Animal Health 11, pp. 211–221.

**18.Munoz-Canoves, P., Vik, D.P. and Tack, B.F., 1990.** Mapping of retinoic acid responsive element in the promoter region of the complement factor H gene. J Biol Chem 33, pp. 20065–20068.

**19.Nakagawa, K., Fujimoto, K. and Miyazawa, T., 1996.** β-Carotene as a high potency antioxidant to prevent the formation of phospholipid hydroperoxides in red blood cells of mice. Biochim Biophys Acta 1299, pp. 110–116.

**20.Nakano, T., Tosa, M. and Takeuchi, M., 1995.** Improvement of biochemical features in fish health by red yeast and synthetic astaxanthin,



Archive of SID

www.SID.ir

**1997.** Effects of feeding of B-carotiene supplemented rotifers on survival and lymphocyte proliferation reaction of fish larvae.

**29.Teodoresco, E.C., 1905.** Organization et development du Dunaliella , nouveau genre de volvocacee-polyblepharilee. Beih z bot central b , Bd , X V III : 215-232.

**30.Thomas L. 1998.** Clinical Laborator Diagnostics. TH.Books Verlagsgesell shaft.p.794-806.

**31.Thompson, L., Choubert, G., Houlihan, D.F. and Secombes, C.J., 1995.** The effect of dietary vitamin A and astaxanthin on the immunocompetence of rainbow trout. Aquaculture 133, pp. 91–102.

**32.Tim J., Bowden, T.J., Thompson, K.D., Morgan, A.L. and Nikoskelainen, S., 2007.** Seasonal variation and immune response: A fish perspective. Department of Zoology , University of Aberdeen, Scotland, UK.pp:695-70

**33.Tort, L., Sunyer, K.O., Gomez, E. and Molinero, A., 1996.** Crowding stress iduces changes in serum hemolytic and agglutinating activity in the gilthead sea bream, *Sparus aurata*. Veterinary Immunology and Immunophathology 51, pp: 179-188.

**34.Wang Y.J., Huchien, Y. and Hugpan. Ch., 2006.** Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival ,growth,pigmentation and antioxidant capacity of characins, (*Hyphessobry callistus ).* Department of Aquaculture , National Taiwan Ocean University Keelung ,Taiwan202.

**35.Yano, T., 1992.** Assays of hemolytic complement activity. In: Stolen,S.J., T.C. Fletcher, D.P. Anderson, S.L. Kaattari and A.F. Rowley, Editors.Techniques in Fish Immunology, SOS Publications, Fair Haven, NJ, pp. 131–141.

**36.Zhang, L.X., Cooney, R.V. and Bertram, J.S., 1992.** Carotenoids up-regulate connexin 43 gene expression independent of their provitamin A or antioxidant properties. Cancer Res 52, pp. 5707–5712.

**37.Zar, J.H., 1999.** Blostatistical Analysis.Prentic Hall.(4th Edition ) New Jersey.pp:663.

Archive of SID



www.SID.ir

# Effects of Dunaliella microalgae (*Dunaliella salina)* on different immune indeses (complements c3 ,c4 and antioxidant capacity) in rainbow trout (*Oncrohynchus mykiss)*

**P. Amaninejad[1*], H. Emadi[2], M. Emtiazjoo[3] and H. Hosseinzadeh Sahhafi[4]**

1,2,3,4) College of marine Science and Technology, Islamic Azad University, North Tehran Branch

[*]**Corresponding author** parisaamaninejad@yahoo.com

**Received date:20/05/2010** **Reception date:21/07/2010**

**Abstract**

Main purpose of this research was to study the effects of Dunaliella microalgae on physiological and antioxidant capacity of the rainbow trout. It was planned to measure the amount of complements c3 , c4 and peroxidase enzymes of the fish. Rainbow trouts were separated in five equal groups and were fed with diets containing 0., 5,7 ,9 and 11 grams of pure dried Dunaliella in each kilogram of food respectively.Blood samples were taken from 25 random collected fish, at the end of first and third months of culture and were send to the laboratory to measure complement and peroxidase factors.Results indicated that the amount of complements c3, c4 and peroxidase enzymes in the blood pelasma of those fish fed with Dunaliella aglae, With the increased of Dunliella in food, and increased weight, levels of c3 , c4 and peroxidase were also increased. Treatment 4 had highest effect on increasing weight of fish and was significantly different with other treatment.In term of fish length, the longest length was observed in treatment 4 , which had significant different with treatment 1($p<0/05$). The results indicated that Dunaliella aglae containing β- carotene,has favourable effects on the immune system of rainbow trout.Thus dunaliella algae can be used as a nutrient in rainbow trout diet ,improving fish weight and length gain while having physiological positive properties on the fish.

**Keywords:** Dunaliella microalgae (*Dunaliella salina),* Rainbow trout, complement, peroxidase



Archive of SID

www.SID.ir