

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

پرینسا امانی نژاد^{۱*}، حسین عمادی^۲، مژگان امتیاز جو^۳ و همایون حسین زاده صحافی^۴

۱، ۲، ۳ و ۴) دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال

parisaananinejad@yahoo.com

* نویسنده مسئول مکاتبات

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۴/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۲/۳۰

چکیده

این مطالعه به بررسی، اثر جلبک دونالی یلا بر تغییرات فعالیت اجزای C۳ و C۴ کمپلمان و پراکسیداز در ماهی قزل آلائی رنگین کمان مورد مطالعه قرار گرفته است. شاخص های مورد استفاده، تعیین میزان کمپلمان های C۳ و C۴ و پراکسیداز و بررسی 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 (شاهد ۲)، 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 C۴ و پراکسیداز با افزایش مقدار جلبک دونالی یلا و زیاد شدن وزن افزایش یافتند، به طوری که افزایش وزن نهایی در تیمار ۴ به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمار ها بود و بیشترین میزان افزایش طول در تیمار ۴ 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 ایمنولوژیک در ماهی قزل آلائی 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 آلائی 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 آلائی رنگین کمان به منظور بهره گیری از خواص مثبت فیزیولوژیک آن استفاده نمود.

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

مقدمه

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 و 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 *fasciatus* *Oplegnathus* که با روتیفرهای غنی شده با بتا کاروتن 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 یا در ترکیب با دیگر ارگانیزم های دریایی مانند روتیفر و آرتمیا به عنوان استاندارد، در آکواریوم و هجری مورد استفاده قرار گرفته و معلوم شده است که علاوه بر افزایش وزن، باعث گسترش رنگ و بالا بردن محتوای چربی در میکروارگانیزم های دریایی می شود (Wang et al., 2006). سیستم کمپلمان مجموعه آبی مشتمل بر بیش از ۳۵ نوع پروتئین سرمی است که ارتباطی تنگاتنگ و شدیداً کنترل شده با یکدیگر و سایر ملکول های سیستم ایمنی دارند و بسیاری از اعمال اجرایی ایمنی همورال و واکنش های التهابی را به انجام می رسانند

دونالی یلا یک جلبک سبز تک سلولی دوتاژ که و بدون دیواره سلولی است. گونه تیپیک آن *D.salina* می باشد. این جنس اولین بار در سال ۱۸۳۸ توسط 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 آبیگرهای فوق اشباع از نمک بدلیل وجود این جلبک است (Teodoresco, 1905). جلبک *salina Dunaliella* یکی از بهترین جنس های مورد مطالعه در شاخه کلروفیته آبا 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 بتا کاروتن و اسیدهای حلال مواد محرک ایمنی مانند فیکوسیانین، پلی ساکاریدها، آهن و روی می باشد (Qureshi and Ali, 1996). بتا کاروتن 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 مکمل های غذایی و مواد دارویی استفاده می شود. (Tim et al., 2007) (تغذیه با جلبک دونالی یلا، به دلیل وجود مقدار فراوان بتا کاروتن باعث افزایش فعالیت کمپلمان (عامل مکمل) و لیزوزیم شده و در نهایت باعث افزایش سطوح ایمنی بدن می شود (Amar et al., 2004). در آزمایش دیگری، در لاروهای گونه هایی از طوطی ماهی (*Oplegnathus punctatus* و *fasciatus Oplegnathus* که با روتیفرهای غنی شده با بتا کاروتن تغذیه شده بودند، افزایش بقای لاروی مشاهده شد (Tachibana et al., 1997).

آنزیم درون سلولی است که توسط اندامک های درون سلولی پراکسی زوم تولید می شود، این اندامک درون سلولی با غشای دو لایه لیپیدی که در واقع به عنوان سیستم گوارش درون سلولی محسوب می شود، در هضم ساختارهای آسیب دیده سلولی، ذرات غذایی، عوامل پاتوژن و خنثی سازی رادیکال های آزاد اکسیژنی نقش بسزایی دارد و هنگامی که ماهی در مواجهه با عفونت یا آلودگی قرار می گیرد، باعث افزایش تعداد پراکسی زوم سلولی می شود و بدین ترتیب رادیکال های آزاد را بلوکه کرده و مانع اکسید شدن چربی ها می شود (Kaatari and Piganelli, 1996). در این تحقیق دو هدف بنیادی و کاربردی که شامل کسب دانش و جمع آوری اطلاعات کافی در خصوص اثر جلبک دونالی یلا بر سیستم ایمنی و فیزیولوژی ماهی قزل آلا می رنگین کمان و بررسی امکان کاربرد دونالی یلا در پرورش ماهی قزل آلا در راستای بهره گیری از خواص مثبت ایمنی، فیزیولوژیک و افزایش کیفیت و بازارپسندی در نظر می باشند. با توجه به این جلبک دارای خاصیت ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی می باشد، آیا با به کاربرد آن می توان باعث افزایش توان سیستم ایمنی و تغییر در شاخص های ایمنی کمپلمان و پراکسیداز، ماهی شد.

مواد و روش ها

مراحل نمونه برداری 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 آلا می رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با نژاد فرانسوی با وزن تقریبی ۱۰۰ گرم، در پنج گروه در حوضچه های سیمانی با ابعاد ۱۰×۳۷×۱۹۵ سانتی-متر که به سه قسمت مساوی تقسیم شده بودند، با میزان آب

(Sunyer et al., 1997). فعالیت پروتئین های 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). بررسی ها نشان می دهند که ماهیان حاوی پروتئین های C_3 ، C_4 و C_5 بوده که شکسته شده و به ترکیبات آنافیلاکتیک تجزیه می شوند و قادر به آزادسازی آمین های وازواکتیو از سلول های ائوزینوفیلیک گرانولار (EGC) و ترمبوسیت ها می باشند و علاوه بر آن C_5 دارای اثرات شیمیایی بسیار قوی روی نوتروفیل ها می باشد (Abbas et al., 2000). این پروتئین ها در سرم و موکوس نیز وجود داشته و در نتیجه مکانیزم های آبخاری، که آسیب به غشای سلولی است، این سیستم به وسیله سه مسیر جداگانه (در هگک فیش ها تنها به وسیله یک مسیر کلاسیک) فعال می شود، که در نهایت منجر به تشکیل کمپلکس از بین برنده غشاء می گردد. 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 می گردد و علت اطلاق کلاسیک به آن، این است که در مقایسه با مسیر فرعی، مدت زمان طولانی تری از شناسایی آن می گذرد. مسیرهای فرعی کمپلمان مکانیزم هایی را جهت حذف پاتوژن ها بدون حضور آنتی بادی در اختیار میزبان می گذارند (Stoskopfe, 1993). این پروتئین ها در برابر حرارت به شدت ناپایدار می باشند. برخی از باکتری ها قادرند مستقیماً به وسیله لیزوزیم تجزیه شوند، اما در بسیاری موارد، غشاء دیواره سلولی باکتری ها 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 می شود (Fast et al., 2002). پراکسیداز یک

آزمایشگاهی بررسی و تعیین شده بود، تهیه گردید. جلبک دونالی یلا سالینا در مقادیر مختلف ۲۱، ۳۱/۵، ۳۷/۵ و ۴۶/۵ گرم به محلول نشاسته اضافه شده و به دلیل افتی که وجود داشت یک درصد جلبک به هر تیمار اضافه شد. میزان غذا برای هر تیمار روزانه محاسبه و توزین شده و در اختیار ماهی بر مبنای ۱/۸ درصد وزن بدن قرار می گرفت (باقری، ۱۳۸۸). غذای دان مورد استفاده در این تحقیق از شرکت Skretting ایتالیا بود که ترکیبات آن در جدول ۱ ارائه شده است.

ورودی ۱/۵ لیتر در ثانیه نگهداری شدند. در طی دوره سازگاری و پیش از آغاز تغذیه با جیره‌های آزمایشی، ماهی‌ها به مدت ۱۴ روز با غذای قزل آلائی غذا دهی GFT2 شدند. سپس ماهی‌ها با ۵ جیره آزمایشی در ۵ تکرار در یک دوره ۹۰ روزه تغذیه شدند، ماهی‌ها ۲ بار در روز (ساعت‌های ۱۰ و ۱۶) و ۷ روز هفته به طور دستی غذادهی شدند. لازم به ذکر است که در این بررسی از ماهیانی که در یک دوره سه ماهه به شرح زیر حاصل شده بودند استفاده گردیده است. ابتدا غلظت مناسبی از محلول نشاسته که در مقیاس

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

کشت دادن در آزمایشگاه و قرار گرفتن در شرایط خاص (استرس نوری و افزایش غلظت نمک از ۱۵ درصد به ۳۰ درصد) تولید رنگدانه بتاکاروتن نمود. سپس به وسیله دستگاه سانتریفیوژ با نام تجاری Separator (مدل ۲۰۴ MAB، - ۸۴۰۰ دور در دقیقه، ساخت سوئد) جلبک از محیط کشت جمع آوری گردید و پس از خشک کردن به شکل آرد جلبک با ۳۰ درصد نمک در آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. آب مورد نیاز از چشمه‌ای که در بالا دست کارگاه قرارداد داشت، تامین شد که طی دوره آزمایش، دمای آب ۱۴+۱ درجه سانتی گراد و میزان پی اچ و اکسیژن محلول در آب به ترتیب ۷/۵ و ۹/۵ میلی گرم در لیتر بود.

به دلیل اینکه هر گرم از جلبک دونالی یلا دارای ۱۰ تا ۲۰ میلی گرم بتاکاروتن می باشد (باقری، ۱۳۸۸)، میزان جلبک خالص مورد نیاز برای هر کیلوگرم غذا در تیمارهای مشخص 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 بود، لذا به هر کیلوگرم غذا به ترتیب ۷، ۱۰/۵، ۱۲/۵ و ۱۵/۵ گرم جلبک اضافه گردید. جلبک مورد نیاز تحقیق از موسسه تحقیقات علمی - صنعتی ایران، آزمایشگاه بیوتکنولوژی فراهم گردید. نمونه این جلبک برای کشت از دریاچه حوض سلطان (نزدیکی شهر قم) در اردیبهشت ماه، در دمای ۴۸ درجه سانتی گراد جمع آوری شده و بعد از خالص سازی و

عملیات نمونه برداری در یک دوره سه ماهه صورت گرفت، به طوری که در ابتدای ماه اول (شاهد ۱) ۲۵ نمونه و در انتهای ماه سوم (شاهد ۲) ۲۵ نمونه از گروه شاهد ها و تیمارها به همراه تکرارهایشان به صورت تصادفی از هر مخزن ۵ ماهی برداشت شد. پس از بیهوش کردن با عصاره گل میخک (۵۰۰:۱) آنها را خارج کرده (مهرابی، ۱۳۷۸) و قسمت دمی هر یک را با حوله کاملاً خشک کرده و به صورت معمولی و از پهلو بر روی میز گذاشته و از طریق قطع ساقه دمی خونگیری انجام پذیرفت (کلباسی، ۱۳۷۸). خون هر نمونه به صورت جداگانه درون یک لوله آزمایش انتقال یافت. لوله های آزمایشگاهی حاوی خون داخل فلاسک یخ و به سرعت به آزمایشگاه همت انتقال داده شد تا شاخص های مورد نظر در خون این ماهیان مورد بررسی قرار گیرد. در آزمایشگاه، لوله های شیشه ای 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 کیت های تجاری مخصوص (شرکت پارس آزمون) با شماره ۱- ۸۸۰۰۱ و بر اساس روش ایمونوتوربیدی متریك (Thomas, 1998) و شاخص به روش الایزا (دیوی و برنارد، ۱۹۹۶) با دستگاه Cobasmira (Roche) با دقت ۰/۱ اندازه گیری و به روش اتوآنالایزر خوانده شدند.

به منظور تجزیه و تحلیل داده های کمی از آنالیز واریانس یک طرفه و برای تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح احتمال ($P < 0.05$) استفاده شد و برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون کلموگروف اسمیرنوف و برای بررسی همگنی داده ها از آزمون لون (Leven) در نرم افزار SPSS استفاده شد (Zar, 1999).

نتایج

نتایج حاصل از سنجش کمپلمان های C_3 ، C_4 و پراکسیداز، در دوره ی 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 با مقدار ۱/۲۲ نشان داد. آنالیزهای آزمایشگاهی با ۵ تکرار انجام شده است که در جدول ۲ آورده شده است.

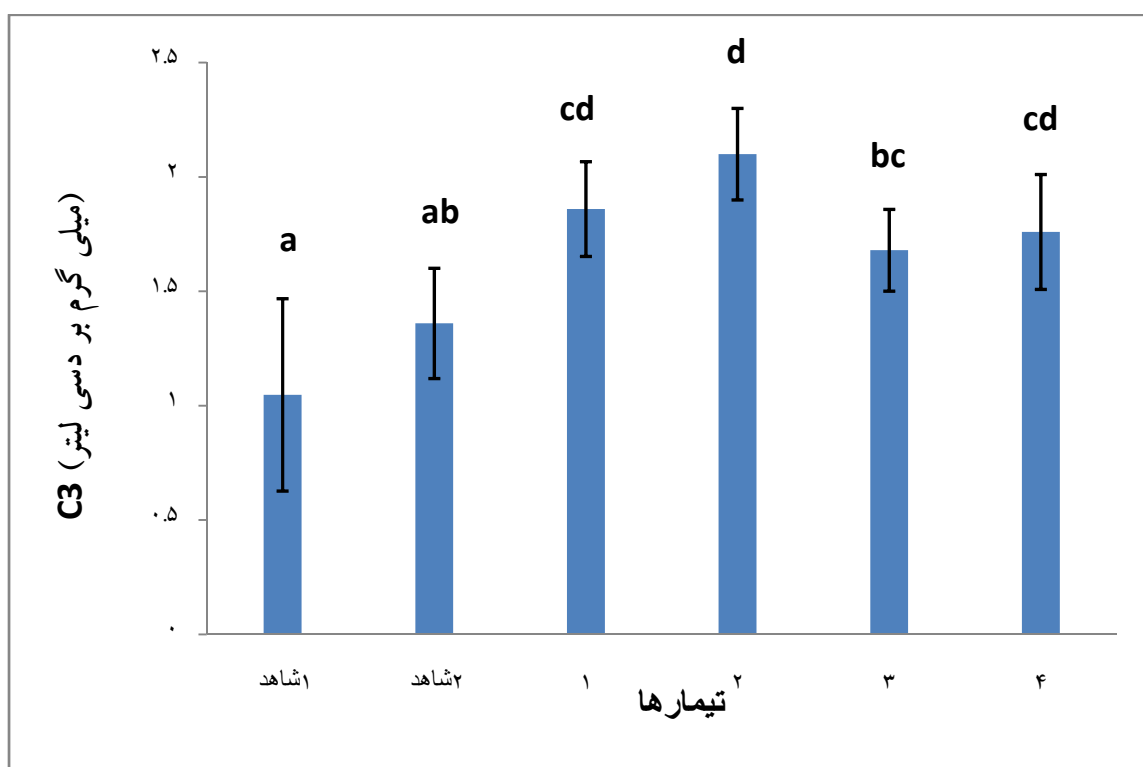
جدول ۲: میانگین تغییرات میزان C_3 ، C_4 و پراکسیداز در ماهی قزل آلائی تغذیه شده با جلبک دونالی یلا از

زمان شروع و سه ماه پس از پرورش

زمان	تیمارهای آزمایشی	C_3	C_4	پراکسیداز
		(میلی گرم / دسی لیتر)	(میلی گرم / دسی لیتر)	(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
	تیمار ۲	۲/۱	۲/۰۸	۰/۲
	تیمار ۳	۱/۶۸	۱/۷۴	۰/۳۵
	تیمار ۴	۱/۷۶	۱/۷۸	۱/۲۲

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 شکل ۱ به صورت میانگین + انحراف معیار ارائه شده، که حروف متناوب نشانگر وجود اختلاف معنی دار از نظر آزمون دانکن می باشد.

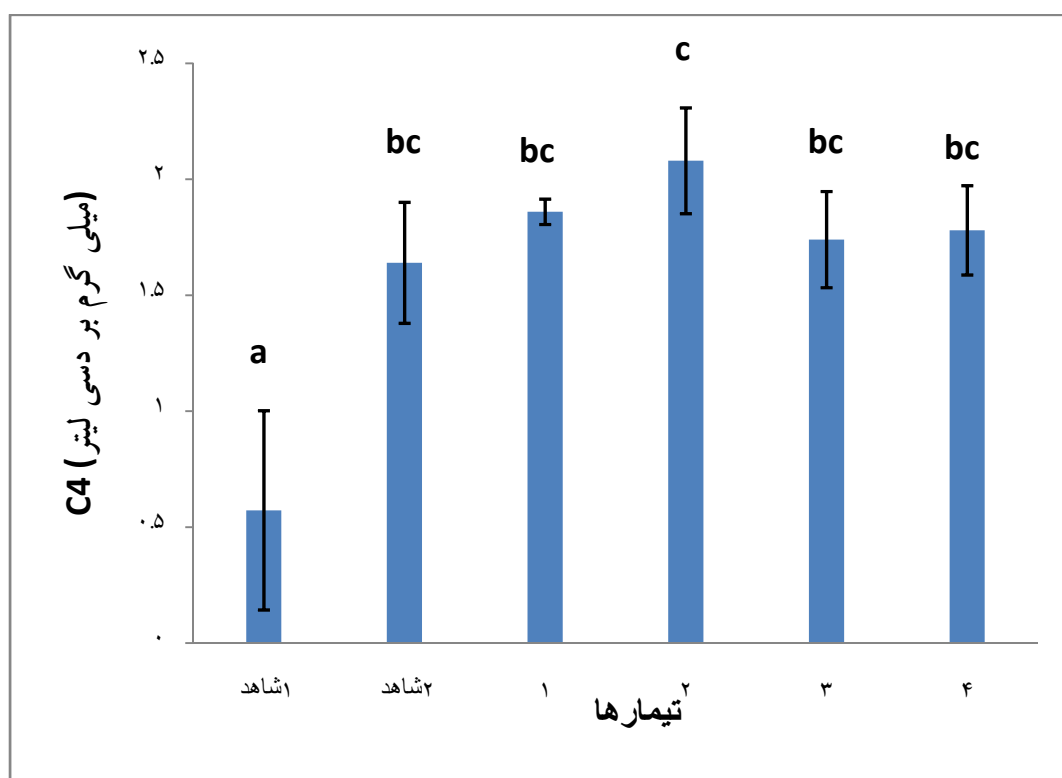
نتایج بدست آمده در این آزمایش نشان دادند که تغییرات سطح کمپلمان C_3 در پلاسمای ماهی هایی که با جلبک دونالی یلا تغذیه شده‌اند، از روند یکسانی برخوردار نبوده و در مقایسه با ماهی های گروه شاهد اختلاف معنی داری (۰/۰۵ $p <$) دیده شد. میزان C_3 در تمامی تیمارهای آزمایشی افزایش یافته بود. بیشترین میزان افزایش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



شکل ۱: میانگین تغییرات کمپلمان C₃ و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی در ماهی قزل آلا تغذیه شده با جلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) (۱۳۸۸)

ماهی‌های گروه شاهد ۱ به طور معنی‌داری افزایش داشت. میزان C₄ در تمامی نمونه‌های آزمایشی افزایش یافته و بیشترین میزان افزایش متعلق به تیمار ۲ بود. تیمارهای ۱ و ۴ به ترتیب پس از آن قرار داشتند (شکل ۲).

تغییرات سطح کمپلمان C₄ در پلاسمای ماهی‌هایی که با جلبک دونالی یلا تغذیه شده بودند، در مقایسه با ماهی‌های گروه شاهد ۱ افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) را نشان دادند. میزان C₄ در پلاسمای ماهی‌های گروه شاهد ۲ نسبت به

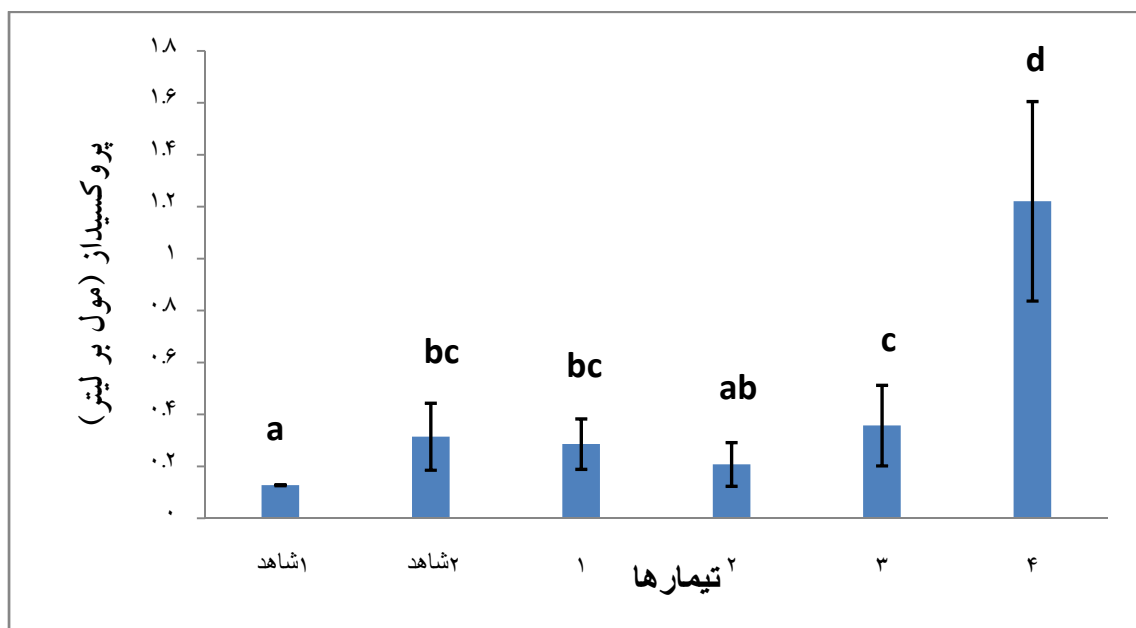


شکل ۲: میانگین تغییرات کمپلمان C_۴ و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی در ماهی قزل‌آلای

تغذیه شده با جلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) (۱۳۸۸)

افزایش میزان پراکسیداز از روند یکسانی برخوردار 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 (شکل ۳).

سطح فعالیت پراکسیداز در پلاسما، در ماهی‌هایی که با جلبک دونالی یلا تغذیه شده بودند، در مقایسه با ماهی‌های گروه شاهد ۱ افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) را نشان دادند. میزان فعالیت پراکسیداز در پلاسما ماهی‌های گروه شاهد ۲ به طور معنی‌داری بیشتر از ماهی‌های گروه شاهد ۱ بود.



شکل ۳: میانگین تغییرات پراکسیداز وانحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی در ماهی قزل آلا

تغذیه شده با جلبک دونالی یرا (*Dunaliella salina*) (۱۳۸۸)

میزان آن در تیمار ۱ با مقدار ۴۵۰ گرم مشاهده شد. طبق این جدول میانگین طول در نمونه‌های شاهد ۱ با مقدار ۲۰/۳۶ سانتی متر کمتر از میانگین طول در نمونه‌های 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.

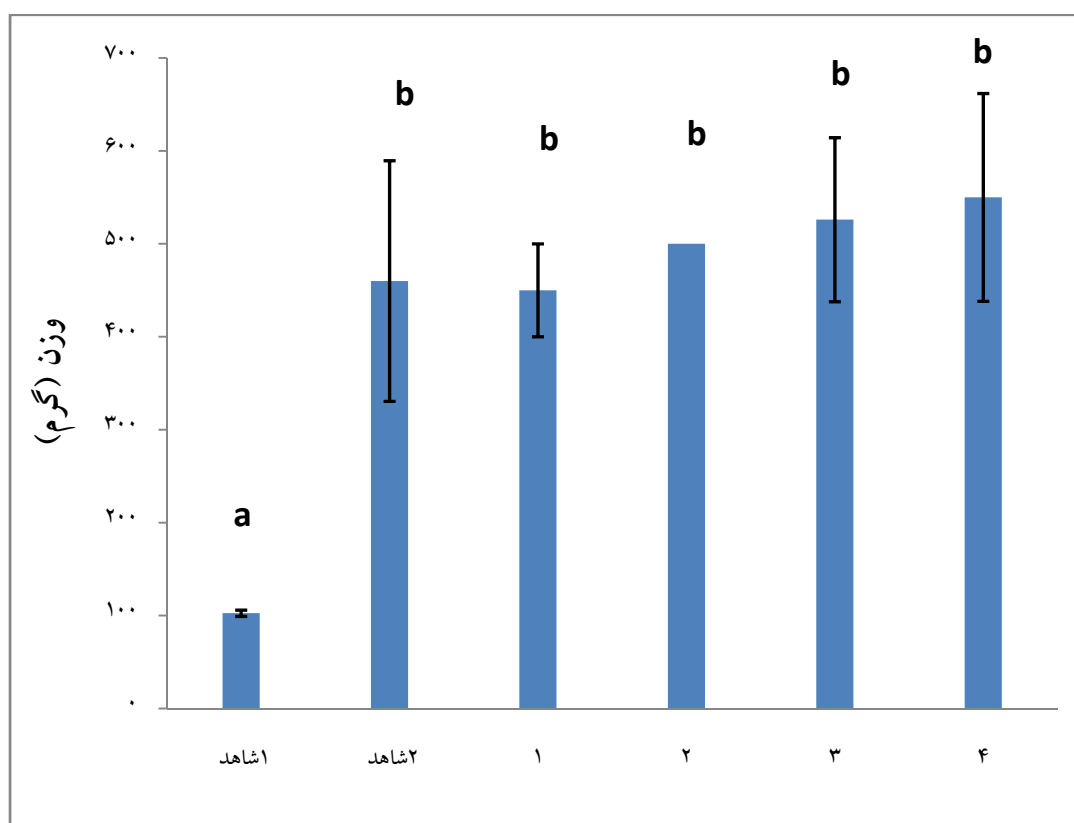
نتایج حاصل از زیست‌سنجی (وزن و طول کل) در دوره ۹۰ روز آزمایش، به صورت میانگین در جدول ۳ ارائه گردیده است. نتایج این جدول نشان می‌دهد که میانگین وزن در نمونه‌های شاهد ۱ با مقدار ۱۰۲/۶ گرم کم‌تر از میانگین وزن در نمونه‌های شاهد ۲ با مقدار ۴۶۰ گرم بود. بیشترین میزان وزن در تیمار ۴ با مقدار ۵۵۰ گرم و کمترین

جدول ۳: میانگین تغییرات وزن و طول و شاخص وضعیت در ماهی قزل آلائی تغذیه شده با جلبک دونالی یلا از زمان شروع و سه ماه پس از پرورش (۱۳۸۸)

زمان	نمونه‌ها	میانگین		شاخص وضعیت
		وزن (گرم)	طول (سانتیمتر)	
شروع آزمایش	شاهد ۱	۱۰۲/۶	۲۰/۳۶	۱/۲۲
	شاهد ۲	۴۶۰	۲۸/۴	۱/۹۷
۳ ماه بعد	تیمار ۱	۴۵۰	۲۹/۲	۱/۸۳
	تیمار ۲	۵۰۰	۳۰/۲	۱/۸۲
	تیمار ۳	۵۲۶	۳۰/۹	۱/۷۷
	تیمار ۴	۵۵۰	۳۰/۷۴	۱/۸۷

به لحاظ داشتن مواد معدنی ضروری برای بدن، باعث افزایش رشد در ماهی قزل آلائی رنگین کمان شد. وزن ماهی‌ها در تمامی تیمارها افزایش یافته است. بیشترین افزایش وزن در تیمار ۴ و پس از آن در تیمار ۳ مشاهده شد (شکل ۴).

با توجه به داده‌های حاصل از فاکتور وزن و نتایج حاصل از آزمون دانکن، به خوبی مشخص می‌شود، که با افزایش میزان جلبک در جیره غذایی، رشد ماهی‌ها به یک اندازه افزایش یافته است و اختلاف آماری معنی‌داری در تیمارها و ماهیان گروه شاهد ۲ دیده نشد ($p < 0.05$). جلبک دونالی یلا

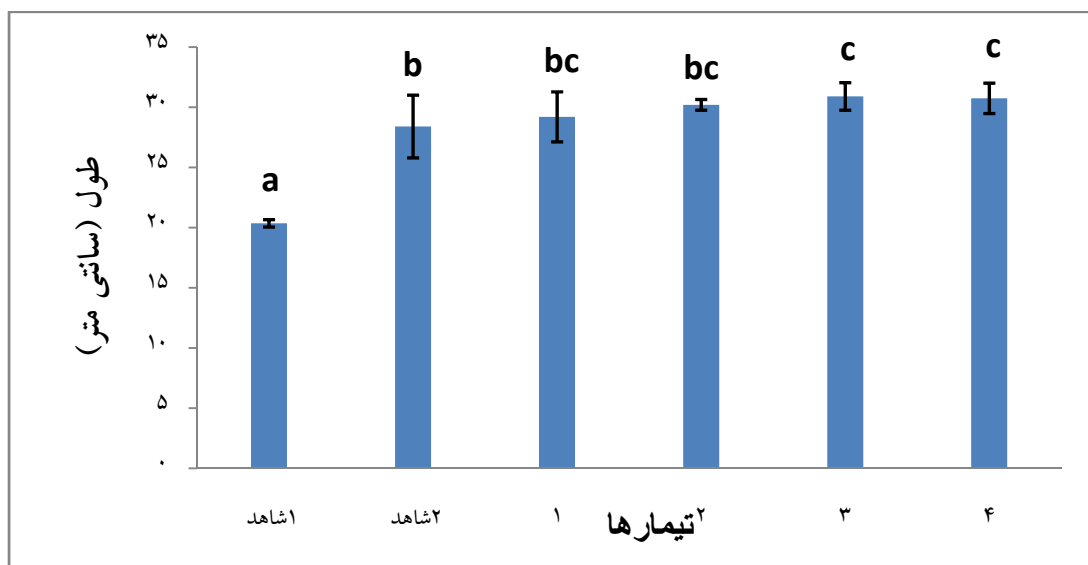


شکل ۴: میانگین وزن وانحراف معیارهای مربوطه در نمونه های شاهد و تیمارهای آزمایشی در ماهی قزل آلالی تغذیه شده با

جلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) (۱۳۸۸)

مشاهده گردید. از نکات قابل توجه این است، که از نظر میزان غذای مصرفی بین تیمارها اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت ($p < 0.05$) و با افزایش مقدار جلبک در جیره غذایی طول ماهیها افزایش یافت.

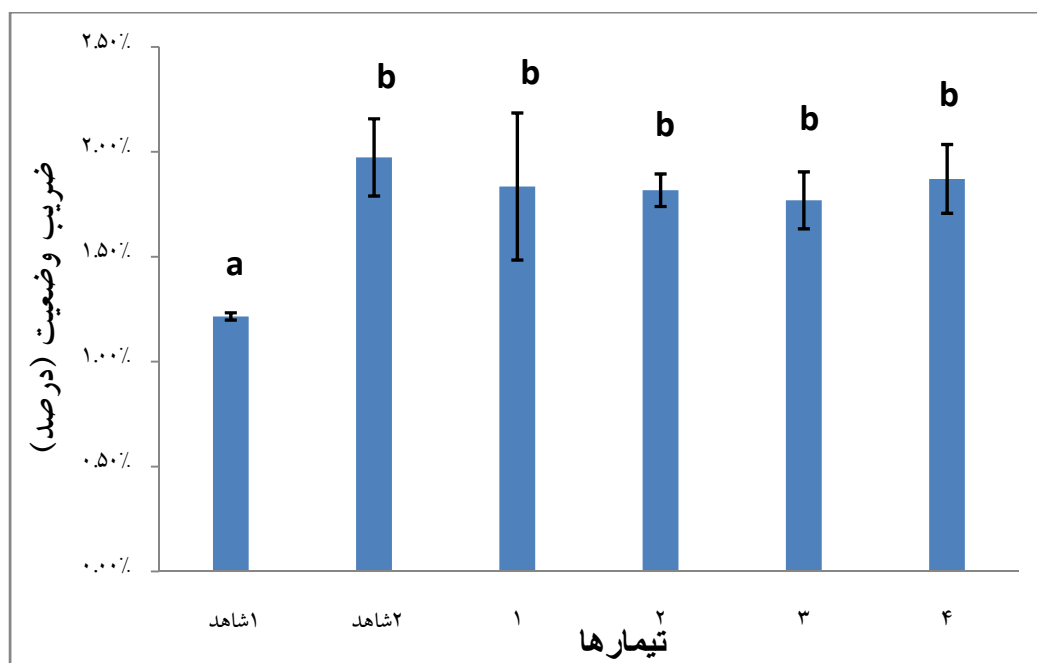
نتایج حاصل از فاکتور طول و آزمون دانکن نشان دهنده این است که طول ماهیهای تغذیه شده با جلبک دونالی یلا در مقایسه با گروه شاهد ۲ به طور معنی داری افزایش یافته است. به طوری که بیشترین میزان افزایش در تیمار ۳ و ۴



شکل ۵: میانگین طول و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد تیمارهای آزمایشی ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با جلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) (۱۳۸۸)

یافته و اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل دیده نمی‌شود ($p < 0.05$) (شکل ۶).

نتایج حاصل از بررسی شاخص ضریب وضعیت نشان می‌دهد که رشد ماهی در تمامی تیمارها به یک اندازه افزایش



شکل ۶: میانگین ضریب وضعیت و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی در ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با جلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) (۱۳۸۸)

بحث و نتیجه گیری

جلبک دونالی یلا از جمله جلبک های ریز شناور در آب است که حاوی رنگدانه بتاکاروتن و اسیدهای حلال مواد محرک ایمنی مانند فیکوسیائین، پلی ساکاریدها، آهن و روی می باشد (Qureshi and Ali, 1996). فعالیت کمپلمان سرم در پلاسماهای ماهی های تغذیه شده با جلبک دونالی یلا بالا بود، زیرا تغذیه با جلبک دونالی یلا به دلیل وجود مقدار فراوان بتاکاروتن باعث افزایش فعالیت کمپلمان های C₃ و C₄ شده و در نتیجه باعث افزایش سطح ایمنی بدن می شود. تغییرات کمپلمان سرم در حفاظت از سیستم ایمنی غیر اختصاصی در ماهیان بسیار مهم می باشد و بالا بودن سطوح C₃ و C₄ پلاسما در سلامتی ماهیان موثر است (Yano et al., 1992). افزایش فعالیت کمپلمان سرم در ماهی قزل آلابی 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 ناحیه پشתיانی ژن H (ژن مسئول سنتز کمپلمان) فاکتور کمپلمان باعث افزایش mRNA ژن H و سطوح پروتئین سلول ها می شوند (Munoz-canoves et al., 1990). در این بررسی با وجود سطوح پایین بتاکاروتن سرم، تأثیر معنی داری بر روی برخی شاخص های 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 مشتق های موثرش مانند رتینوئیدها تبدیل می شود (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 می شود، 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). پاسخ های 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 ماهی ها مورد نیاز است و این پژوهش نشان داد که مکمل های غذایی کاروتنوئیدی، مکانیسم های حفاظتی در ماهی قزل آلابی رنگین کمان را تعدیل می کنند و از سیستم ایمنی غیر اختصاصی در ماهیان محافظت می نمایند. در مورد بررسی اثر جلبک دونالی یلا روی شاخص های ایمنی می توان 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 مکانیسم های حفاظتی غیر اختصاصی در ماهی قزل آلابی رنگین کمان نشان داد که رنگدانه های کاروتنوئیدی موجب افزایش فعالیت سیستم کمپلمان و لیزوزیم شده و در نتیجه باعث افزایش تعداد کل لکوسیت ها و سلول های بیگانه خوار می شود. میزان ایمونوگلوبولین ها در پلاسماهای ماهی هایی که با جلبک دونالی یلا تغذیه شده بودند افزایش یافت (Amar et al., 2004). فعالیت سیستم کمپلمان از اتصال قسمت C1q کمپلمان C1 به FC آنتی بادی IgG آغاز می شود که این کمپلکس با تجزیه C₃، C₄ را فعال می سازد. اجزای سازنده کمپلمان های C₃ و C₄ متعلق به فوق خانواده ماکروگلوبولین آلفا-۲ می باشند که این سیستم در برگیرنده مجموعه ای از پروتئین هاست (Dodds

شاخص موثر باشند. کمپلمان‌ها در واقع پروتئین‌های فاز حاد سیستم ایمنی محسوب می‌شوند و غلظت آنها معمولاً پس از نکرور 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 افزایش یافت. بتا کاروتن موجود در دونالی یلا پیش ساز ویتامین A و دفع کننده اکسیژن است، به همین دلیل می‌تواند از طریق خاصیت آنتی اکسیدانی و مسیرهای رتینوئیدی بر سیستم ایمنی ماهی تأثیر بگذارد افزایش میزان بتا کاروتن باعث سرکوب O_2^- می‌شود که این عمل با خاصیت آنتی اکسیدانی بتا کاروتن سازگاری دارد. زمانی که پلاسما یا غشاء فاگزوم تحریک می‌شود، سلول‌های فاگوسیتیک O_2^- را با کاهش یک الکترون از مولکول O_2 تولید می‌کنند و هنگامی که کاروتنوئیدها در این سلول‌ها موجود هستند، O_2^- درست در مراحل اولیه تحریک سرکوب می‌شود و کاروتنوئیدها توانایی این را دارند که رادیکال‌های آزاد را بلوکه کرده و به عنوان آنتی اکسیدان عمل نمایند (Nakagawa et al., 1996). بتا کاروتن موجود در رژیم غذایی قزل آلا باعث کاهش حساسیت کبد به پرواکسید شدن 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 فاگزوم - لیزوزیم شده، که این یک پدیده مرتبط با تغییرپذیری غشای

(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 میکروب‌ها آمادگی بهتری پیدا می‌کنند.

C_4 نقش اصلی را در فعال سازی روش‌های کلاسیک ولکتین مانند فاکتور B و C_2 ، C_4 که در ناحیه MHCIII قرار دارند، بازی می‌کند (Law et al., 1984). C_4 یک پروتئین بتا-1 است، که به وسیله C_{1s} فعال می‌شکند و تبدیل به C_{4a} و C_{4b} می‌شود. C_{4a} و C_{4b} 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 آلا رنگین کمان مشخص شده است. پروتئین C_4 قزل آلا به شکل کلونی تولید شده و توالی اولیه آن در ماده اصلی ناحیه ی PNPVIH، تنها با یک ژن منفرد برای کد گذاری 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 C_3-1 و C_4-1 ، C_4-2 بستگی به وجود IgM چسبیده به سلول‌های هدف در ماهی قزل آلا 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

لیزوزیمی می‌باشد (Okai and Higashi, 1996). در مدت زمان فعالیت فاگوسیتیک، واکنش‌های موثر و متقابل بین غشاهای درون سلولی و غشاء پلازما 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 می‌کنند. 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 بیماری‌زای 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 اکسیدانی افزایش می‌یابد. نتایج این بررسی، براساس تحقیقات Nakano و همکاران در سال ۱۹۹۵ و ۱۹۹۹ نشان داد که بتاکاروتن به طور قابل توجهی سطوح پراکسیداز لیپید کبد را در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان کاهش می‌دهد (Nakano *et al.*, 1995)، (Nakano *et al.*, 1999) و در ماهی‌های تغذیه شده با مکمل غذایی کاروتنوئیدی تغییر چشم گیری در محتوای پروفیل لیپید و هیپاتیت موکوپلی ساکارید دیده می‌شود.

لیزوزیمی می‌باشد (Okai and Higashi, 1996). در مدت زمان فعالیت فاگوسیتیک، واکنش‌های موثر و متقابل بین غشاهای درون سلولی و غشاء پلازما 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 می‌کنند. 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 بیماری‌زای 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 اکسیدانی افزایش می‌یابد. نتایج این بررسی، براساس تحقیقات Nakano و همکاران در سال ۱۹۹۵ و ۱۹۹۹ نشان داد که بتاکاروتن به طور قابل توجهی سطوح پراکسیداز لیپید کبد را در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان کاهش می‌دهد (Nakano *et al.*, 1995)، (Nakano *et al.*, 1999) و در ماهی‌های تغذیه شده با مکمل غذایی کاروتنوئیدی تغییر چشم گیری در محتوای پروفیل لیپید و هیپاتیت موکوپلی ساکارید دیده می‌شود.

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

سپاسگزاری

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

منابع

- 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. Physiol* 132 (A). pp: 645-657.
- ۱. باقری، ک.**، ۱۳۸۸. بررسی اثر جلبک دونالیلا بر روی تغییر رنگ گوشت و رشد ماهی قزل آلائی 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، ه.**، ۱۹۹۶. خون‌شناسی، انعقاد و طب انتقال خون. ترجمه: احمدی، ک.، م. مجتهدزاده، و درخشان (۱۳). انتشارات تیمورزاده. تهران، ۴۵۰ ص.
- ۳. کلباسی، م.**، ۱۳۷۸. تهیه کاربوتایپ کروموزومی از جنین، لاروو fry، ماهی قزل آلائی رنگین کمان. طرح پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس. ۶۸ ص.
- ۴. مهربابی، ی.**، ۱۳۷۸. مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی پودر گل درخت میخک (*Syzygium aromaticum*) بر روی ماهی قزل آلائی رنگین کمان. مجله پژوهش و سازندگی. ۴۲، ۴۱، ۴۰: ۱۶۰-۱۶۲.
- 5. Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Pober, J.S., 2000.** Cellular and molecular immunology. W. B. Saunders, 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

- 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 Biology 142, pp. 398–402
- 24. Poortmuns, J.R., 1987.** serum protein determination during short exhaustive 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. Stoskopf, M.A., 1993.** Fish medicine. Saunders 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 Environment. 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,

- and agglutinating activity in the gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 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.
- 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

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

P. Amaninejad^{1*}, H. Emadi², M. Emtiazoo³ and H. Hosseinzadeh Sahhafi⁴

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

*Corresponding author

parisaaminejad@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